ECOLE NATIONALE VETERINAIRE DE TOULOUSE

ANNEE : 1982 THESE : 38

GERMES DES LAITS DE MAMMITES BOVINES : EVOLUTION DE LEUR RESISTANCE AUX ANTI-INFECTIEUX

(Etude à partir d'antibiogrammes réalisés par le Laboratoire des Services Vétérinaires de Nantes)

THESE

Pour le Doctorat Vétérinaire
(Diplôme d'Etat)
Présentée et soutenue publiquement en 1982
par

LEROUX Patrick, Charles, Marie
Né le 3 avril 1955 à CUGAND (Vendée)

Membres du Jury

Président .....Madame ENJALBERT
Professeur à l'Université Paul Sabatier de Toulouse

Assesseurs .....Monsieur LAUTIE
Professeur à l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse

Monsieur CHANTAL
Professeur à l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse

UNIV.
LEEDS
1898.

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41547621_0022

ECOLE NATIONALE VETERINAIRE DE TOULOUSE

ANNEE : 1982 THESE : 38

GERMES DES LAITS DE MAMMITES BOVINES : EVOLUTION DE LEUR RESISTANCE AUX ANTI-INFECTIEUX

(Etude à partir d'antibiogrammes réalisés par le Laboratoire des Services Vétérinaires de Nantes)

THESE

Pour le Doctorat Vétérinaire
(Diplôme d'Etat)
Présentée et soutenue publiquement en 1982
par

LEROUX Patrick, Charles, Marie
Né le 3 avril 1955 à CUGAND (Vendée)

Membres du Jury

Président .....Madame ENJALBERT
Professeur à l'Université Paul Sabatier de Toulouse

Assesseurs .....Monsieur LAUTIE
Professeur à l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse

Monsieur CHANTAL
Professeur à l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse

MINISTERE DE L'AGRICULTURE
ECOLE NATIONALE VETERINAIRE DE TOULOUSE

Directeur ..... M. LAUTIE
Directeur honoraire ..... M. FLORIO
Professeurs honoraires ..... M. BRIZARD
M. SAURAT

PERSONNEL ENSEIGNANT

CHAIRE DE PHARMACIE ET TOXICOLOGIE
Professeur titulaire ..... M. GODFRAIN
Professeur sans chaire ..... Mme BURGAT-SACAZE
Pharmacie et toxicologie

CHAIRE DE PHYSIQUE ET CHIMIE BIOLOGIQUES ET MEDICALES
Professeur titulaire ..... M. RICO
Professeur sans chaire ..... M. BRAUN
Maître Assistant ..... M. BENARD
Physique biologique et médicale - Chimie biologique et médicale - Informatique biologique et médicale

CHAIRE D'ANATOMIE DES ANIMAUX DOMESTIQUES
Professeur titulaire ..... M. PAVAUX
Maître Assistant ..... M. LIGNEREUX
Maître Assistant ..... M. SAUTET
Organogénèse - Tératologie - Anatomie Générale - Anatomie appliquée

CHAIRE DE PHYSIOLOGIE, PHARMACODYNAMIE ET THERAPEUTIQUE
Professeur titulaire ..... M. RUCKEBUSCH
Professeur sans chaire ..... M. FARGEAS
Maître Assistant Agrégé ..... M. TOUTAIN
Physiologie - Pharmacodynamie - Thérapeutique

CHAIRE D'HISTOLOGIE - ANATOMIE PATHOLOGIQUE
Professeur titulaire ..... M. VAN HAVERBEKE
Professeur sans chaire ..... M. CABANIE
Maître Assistant Agrégé ..... M. MAGNOL
Histologie - Embryologie - Anatomie Pathologique - Clinique

CHAIRE D'HYGIENE ET INDUSTRIE DES ALIMENTS D'ORIGINE ANIMALE
Professeur titulaire ..... M. LABIE
Maître de Conférences ..... M. EECKOUTTE
Maître Assistant Agrégé ..... Mme BENARD
Hygiène, Inspection, Contrôle et Technologie des denrées alimentaires d'origine animale - Clinique

CHAIRE DE PARASITOLOGIE ET MALADIES PARASITAIRES
Professeur titulaire ..... M. DORCHIES
Maître de Conférences ..... M. FRANC
Maître Assistant ..... M. DUCOS DE LAHITTE
Zoologie appliquée - Ecologie - Parasitologie externe Dermatologie - Parasitologie interne - Clinique

CHAIRE DE SEMIOLOGIE ET PATHOLOGIE MEDICALE DES EQUIDES ET CARNIVORES ET DE LEGISLATION
Professeur titulaire ..... M. LESCURE
Maître de Conférences ..... M. GUELFI
Maître Assistant ..... M. REGNIER
Sémiologie et Pathologie Médicale des Equidés et Carnivores - Législation Vétérinaire et Déontologie - Clinique

CHAIRE DE PATHOLOGIE MEDICALE DU BETAIL ET DES ANIMAUX DE BASSE-COUR

Professeur titulaire ..... M. TOURNUT
Maître de Conférences ..... M. BEZILLE
Maître Assistant ..... M. JOUGLAR

Sémiologie et Pathologie Médicale du bétail et des animaux de basse-cour - Clinique - Consultation itinérante

CHAIRE DE PATHOLOGIE CHIRURGICALE

Professeur titulaire ..... M. CAZIEUX
Maître de Conférences ..... M. GENEVOIS
Maître Assistant ..... M. AUTEFAGE
Maître Assistant ..... M. FAYOLLE

Propédeutique et Sémiologie Chirurgicale - Radiologie - Technique Chirurgicale - Anesthésiologie - Pathologie Chirurgicale - Traumatologie - Podologie orthopédique - Clinique

CHAIRE DE PATHOLOGIE DE LA REPRODUCTION /

Professeur titulaire ..... M. FERNEY
Professeur sans chaire ..... M. ROYAL

Pathologie de l'appareil génital et de la mamelle - Sémiologie et Propédeutique - Pathologie de la Reproduction Obstétrique et Pathologie du nouveau-né - Clinique - Consultation itinérante

CHAIRE DE MALADIES CONTAGIEUSES - ZOONOSES - LEGISLATION SANITAIRE

Professeur titulaire ..... M. CHANTAL
Maître Assistant ..... M. PICAVET

Epidémiologie - Maladies Contagieuses - Zoonoses - Législation Sanitaire - Clinique

CHAIRE DE PATHOLOGIE GENERALE - MICROBIOLOGIE - IMMUNOLOGIE

Professeur titulaire ..... M. LAUTIE
Maître Assistant ..... M. PELLERIN
Maître Assistant ..... M. MILON

Microbiologie - Immunologie - Pathologie Générale

CHAIRE D'ELEVAGE ET D'ECONOMIE

Professeur titulaire ..... M. QUEINNEC
Professeur sans chaire ..... M. DARRE
Maître Assistant ..... Mme QUEINNEC

Ethnologie - Génétique animale - Extérieur - Zootechnie et économie générales - Ethologie appliquée, Sciences, Techniques, Economie de l'Elevage et des Productions animales Insémination artificielle - Organisation de l'Elevage

CHAIRE D'ALIMENTATION

Professeur titulaire ..... M. FALIU
Professeur sans chaire ..... M. GRIESS
Maître Assistant ..... M. ENJALBERT

Botanique appliquée et Bromatologie - Agronomie - Alimentation

CHARGES D'ENSEIGNEMENT

MM. les Professeurs ANGELIER, ARMENGAUD, COMBES, COMBRET, CROS, FERNET et MAZENC

La Faculté et l'Ecole déclarent n'être pas responsables des opinions émises par les candidats (délibération de la Faculté en date du 10 Mai 1891 et du conseil de l'Ecole en date du 13 Juin 1924).

A NOTRE JURY DE THESE

Madame le Professeur ENJALBERT
de l'Université Paul Sabatier de Toulouse

Qui nous a fait le grand honneur d'accepter la présidence de notre jury de thèse.

Monsieur le Professeur LAUTIE
Directeur de l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse

Qui a bien voulu accepter le sujet de notre thèse, et nous guider par ses conseils.

Monsieur le Professeur CHANTAL
DE L'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse

Qui nous a fait l'honneur de participer à notre jury de thèse.

Hommages respectueux.

A mes parents

Pour leur aide et leur soutien
Ma sincère reconnaissance

A ma famille

A tous mes amis

A Monsieur PROTIN
Docteur Vétérinaire, Directeur du Laboratoire des
Services Vétérinaires de Nantes

Qu'il veuille bien trouver ici l'expression de nos plus vifs remerciements pour l'aide qu'il nous a apportée dans la recherche des documents ayants servi de base à ce travail.

A Monsieur le Professeur BODIN
de l'Ecole Nationale Vétérinaire de Nantes

Qui nous a apporté ses précieux conseils et nous a fait l'honneur de bien vouloir juger notre travail
Expression de notre sincère gratitude.

P L A N

INTRODUCTION ..... p. 1

MATERIEL ET METHODES

I - PRELEVEMENT DE LAIT

A) Le matériel ..... p. 3

B) La technique ..... p. 3

C) Conditionnement et expédition ..... p. 4

II - ISOLEMENT ET IDENTIFICATION DES GERMES

A) Isolement ..... p. 10

B) Identification ..... p. 11

C) Résultats : germes identifiés ..... p. 12

III - ANTIBIOGRAMME

A) Principe - Bases théoriques ..... p. 19

B) Techniques ..... p. 23

DISCUSSION DES RESULTATS

I - MECANISMES DE L'ANTIBIORESISTANCE

A) Génétique de la résistance ..... p. 28

B) Mécanismes biochimiques de la résistance ..... p. 34

II - INTERPRETATION DES GRAPHIQUES

A) Bêta-Lactamines ..... p. 35

B) Aminosides ..... p. 39

C) Tétracyclines ..... p. 45

D) Chloramphénicol ..... p. 49

E) Macrolides etapparentés ..... p. 51

F) Rifamycines - Novobiocine ..... p. 56

G) Polypeptides ..... p. 59

H) Sulfamides - Triméthoprime ..... p. 62

I) Dérivés des Furanes ..... p. 66

CONSEQUENCES

I - CHOIX ET EMPLOI DES ANTIBIOTIQUES ..... p. 71

II - RESIDUS D'ANTIBIOTIQUES ..... p. 74

CONCLUSION ..... p. 77

BIBLIOGRAPHIE ..... p. 78

INTRODUCTION

Les mammites occasionnent des pertes économiques importantes. Il faut que le producteur de lait sache que :

- un quartier infecté perd 20 à 50 % de sa production,

- une vache infectée perd 10 % de sa production,

- un troupeau moyen dont le taux cellulaire (nombre de cellules par millilitre de lait) se situe entre 500 000 et 1 000 000 de cellules perd 6,4 % de sa production, à plus de 1 000 000 de cellules, il perd 8,8 % de sa production.

Il y a de plus, dépréciation des animaux les plus atteints.

D'autre part, l'éleveur doit savoir que le lait payé actuellement en fonction des critères de composition (matières azotées et matières grasses) et qualité hygiénique (germes totaux), le sera également en fonction du critère biologique (nombre de cellules) et que ne seront certainement plus commercialisables les laits dont le taux cellulaire sera supérieur à 1 000 000 de cellules.

Il doit savoir également qu'à partir de 500 000 cellules le taux du lactose et de la matière grasse baisse, et qu'à partir de 1 000 000 de cellules le taux de caséine baisse également, d'où diminution du rendement fromager (39).

Il serait bon enfin, que l'éleveur sache que d'après des études récentes, certaines diarrhées des veaux nouveau-nés seraient dues aux mammites, non à cause de l'ingestion de germes pathogènes, mais à cause de la modification du colostrum et de ses propriétés immunitaires; le colostrum provenant des quartiers mammiteux aurait une concentration très faible en immunoglobulines (16).

Pour l'année 1974, ROGUINSKY chiffre la perte totale due aux mammites à 1 milliard 850 millions.

Afin de diminuer l'impact économique des mammites, il est fait largement appel aux anti-infectieux dans le traitement des mammites cliniques ainsi qu'en prévention, hors lactation. Mais l'utilisation de plus en plus grande de telles substances, tant en médecine vétérinaire qu'en médecine de l'homme, comporte un certain nombre de risques et d'inconvénients.

Le consommateur exige une plus grande protection en ce qui concerne la qualité hygiénique du lait, et sur le plan thérapeutique l'emploi abusif et incontrôlé d'anti-infectieux peut conduire à l'apparition de résistances des germes vis-à-vis d'un ou plusieurs antibiotiques.

Nous nous proposons d'étudier par le biais d'antibiogrammes demandés au Laboratoire des Services Vétérinaires de NANTES l'apparition de ces résistances et leurs variations.

Dans une première partie nous préciserons le matériel et les méthodes permettant d'aboutir à la réalisation d'un antibiogramme à partir d'un prélèvement de lait.

Puis nous envisagerons l'étude de l'évolution du pourcentage d'activité de chaque anti-infectieux testé vis-à-vis des germes choisis, sur une période de neuf ans (1970 à 1978). Nous analyserons les résultats obtenus en essayant de rapprocher les faits observés des mécanismes connus de l'antibiorésistance.

Enfin, dans une dernière partie, nous soulignerons les conséquences de cette analyse tant pour le praticien que pour le consommateur.

MATERIEL ET METHODES

Ce chapitre envisage la description du matériel et des méthodes employés par le Laboratoire des Services Vétérinaires de NANTES pour établir les antibiogrammes des germes des laits de mammites bovines.

Les différentes opérations seront exposées dans l'ordre chronologique de leur réalisation : prélèvement de lait, isolement et identification des germes, antibiogramme.

I - PRELEVEMENT DE LAIT

Le prélèvement constitue un temps primordial qui conditionne tous les autres temps de l'analyse bactériologique d'un échantillon de lait.

Il doit être réalisé aseptiquement, en effet une flore de souillure abondante risque de masquer les germes pathogènes, rendant leur isolement et leur identification plus délicats et donc plus longs.

La qualité et la rapidité de la réponse du laboratoire sont fonction de la façon dont les prélèvements ont été effectués.

Nous étudierons successivement le matériel, la technique, les conditions d'expédition.

A) Le matériel

Le matériel nécessaire à la réalisation aseptique d'un prélèvement comporte :

- des flacons hermétiques en plastique, d'une contenance de 20 à 30 ml, à large ouverture et équipés d'un bouchon vissé sur une hauteur suffisante. Le Laboratoire de NANTES délivre gratuitement ce type de flacon aux praticiens. Tout récipient non stérile doit être exclu.

- de l'eau javellisée à 10 % et du savon pour laver la mamelle.

- de l'alcool à 90° et du coton hydrophile pour désinfecter le trayon.

Ce matériel simple est suffisant à condition de respecter soigneusement les différentes étapes de la réalisation du prélèvement.

B) La technique

Il est toujours préférable de prélever le lait au moment de la traite, et non entre deux traites, sinon il se produit une rétention lactée jusqu'à la traite suivante (25).

Il faut également prélever le lait des quartiers des animaux qui n'ont pas reçu d'antibiotiques depuis 15 jours au moins, dans le cas contraire le signaler sur la fiche de commémoratifs accompagnant le prélèvement.

La réalisation du prélèvement aseptique de lait comprend 4 étapes :(58)

1 - Laver soigneusement la mamelle et les trayons à l'eau savonneuse. Rincer. Désinfecter avec l'eau javellisée à 10 %. Sécher avec une serviette en papier à usage unique, ou un linge propre.

2 - Désinfecter l'extrémité du trayon avec un tampon de coton imbibé d'alcool à 90° .
Eliminer les premiers jets de traite : possibilité pour certains germes de gagner la mamelle par voie ascendante.

3 - Saisir le flacon de la main gauche, l'incliner à 45°, le dévisser de la main droite (bouchon maintenu par l'auriculaire).

4 - Saisir le trayon de la main droite et le ramener en position latérale. Traire un jet de lait obliquement dans le tube placé tout près du trayon. Prélever ainsi 20 ml de lait et reboucher.

Remarque : Il est recommandé d'utiliser un flacon par quartier.

Les erreurs de prélèvement peuvent entraîner une contamination par la flore de l'ambiance de l'étable (bactéries sporulées de l'air, levures de l'aliment), une souillure par la main ou par l'extrémité du trayon (streptocoques et staphylocoques de la surface de la peau dont la présence dans les prélèvements est d'une signification ambigüe).

Nombre de prélèvements : le praticien ne doit pas se contenter d'un seul prélèvement sur un seul animal, mais effectuer plusieurs prélèvements sur différents animaux (20 % des quartiers de l'effectif).

C) Conditionnement et expédition

- conservation des prélèvements : par le froid (à 0° C, + 4° C) la congélation est possible.

- rédaction d'une fiche de commémoratifs.

Cette fiche est utile pour orienter le laboratoire et pour interpréter les résultats de l'analyse. Elle doit accompagner le prélèvement mais hors de son emballage (cf modèle ci-contre).

- réalisation des colis.

Le choix et la récolte des prélèvements demandent beaucoup de soin et ils ont une importance capitale dans l'établissement du diagnostic. Encore faut-il qu'ils parviennent au laboratoire dans un état satisfaisant; cela dépend en grande partie de leur conditionnement et de leur expédition.

Le conditionnement doit répondre à 3 exigences :

. protéger le prélèvement de la chaleur, de la pollution et des chocs,

. éviter la dissémination des matières virulentes,

. permettre une identification facile.

N° Référence

Réservé au Laboratoire

SUGGESTION DE FICHES DE COMMEMORATIFS (6)

DEMANDE DE DIAGNOSTIC DE MAMMITES (*)

Dr-Vétérinaire :

Prénom et Nom de l'Eleveur :

Adresse :

Adresse :

Date du prélèvement :

I - RENSEIGNEMENTS SUR L'EXPLOITATION : (Cocher les cases et remplir les rubriques)

1) Espèce concernée :

		Effectif total	
BOVINE			% CMT positifs :
CAPRINE			
OVINE			

2) Prophylaxie des mammites :

Trempage		Si traitement au tarissement, lequel?
Régl. régul. machine		
Vaccination		

(*) Il s'agit d'une fiche individuelle. Si plusieurs animaux sont concernés dans l'exploitation, il est inutile de répéter la rubrique I. Il suffit de remplir directement le verso des autres fiches.

Nom de l'Eleveur :

(uniquement à partir du 2e animal)

II - RENSEIGNEMENTS INDIVIDUELS :

1) Identification du prélèvement:

a) Nom ou N° de l'animal : Age : Stade lactation :

b) Quartier(s) prélevé(s)

BOVINS

Av. G Av. D

C	A
D	B

Ar. G Ar. D

OVINS-CAPRINS

G	D

AUTRES

2) Renseignements cliniques :

	QUARTIER	
Mammite : aigüe		
chronique		
latente		

Troubles associés :

3) Si traitement antérieur :

lequel ? Date, durée :

4) Recherches demandées :

	GAUCHE		DROIT	
	AV C	AV D	AR A	AR B
Microbiologie				
Antibiogramme				
Compt. Cellul.				
Le cas échéant rech. subst. inhibitrice				
Conservat. 8j. de la souche				

Autres recherches :

Signature,

D'un point de vue général, un colis d'expédition doit être réalisé de la façon suivante :

. chaque échantillon est placé séparément dans un récipient étanche, convenablement étiqueté et réfrigéré.

. le ou les récipients contenant les prélèvements sont insérés dans un coffret résistant (bois ou métal) et placés en contact :

- d'une part, avec une source de froid représentée par des sacs de polyéthylène étanches à demi remplis d'eau et préalablement congelés, ou un accumulateur de froid.

- d'autre part, avec une substance absorbante (coton) imbibée avec une solution antiseptique, ayant pour rôle d'absorber et de détruire les agents pathogènes contenus dans chaque récipient en cas de rupture; cela permettra, en outre, d'amortir les chocs.

Ce coffret résistant sera placé dans un emballage isotherme (polystyrène expansé). Le tout entouré de papier d'emballage ou d'un carton sur lequel figure l'adresse du destinataire, ainsi que la fiche de commémoratifs.

Dans tous les cas, on évitera d'expédier un colis en fin de semaine, pour éviter qu'il n'arrive à destination le samedi ou le lundi. Mieux vaut le conserver au réfrigérateur, et ne l'expédier qu'en début de semaine.

Il existe deux modes d'expédition selon le délai disponible :

. confier les prélèvements au propriétaire qui les achemine lui-même immédiatement au laboratoire, ou éventuellement les apporter soi-même. C'est la solution idéale.

. expédier le colis par la poste. L'expédition par la poste entraîne un certain nombre de conditions :

- le poids maximum autorisé est de 5 kg,

- l'adjonction de commémoratifs implique une tarification ''paquet poste'',

- seuls sont acceptés les prélèvements opérés sur des animaux sous réserve qu'ils répondent aux règles de la Convention postale universelle, publiées dans le Bulletin Officiel des P et T du 13 Mars 1956. Ces règles indiquent que le colis doit porter d'une manière apparente, à côté de l'adresse, l'une des mentions : ''Matières destinées à un examen bactériologique'' ou ''Culture microbienne''. Elles précisent également les modalités d'emballage décrites ci-dessus.

La modalité d'expédition recommandée est : ''en express'' avec surtaxe ce qui accélère l'acheminement et la distribution du colis, du bureau de poste qui le reçoit au destinataire, par porteur spécial en dehors des services normaux.

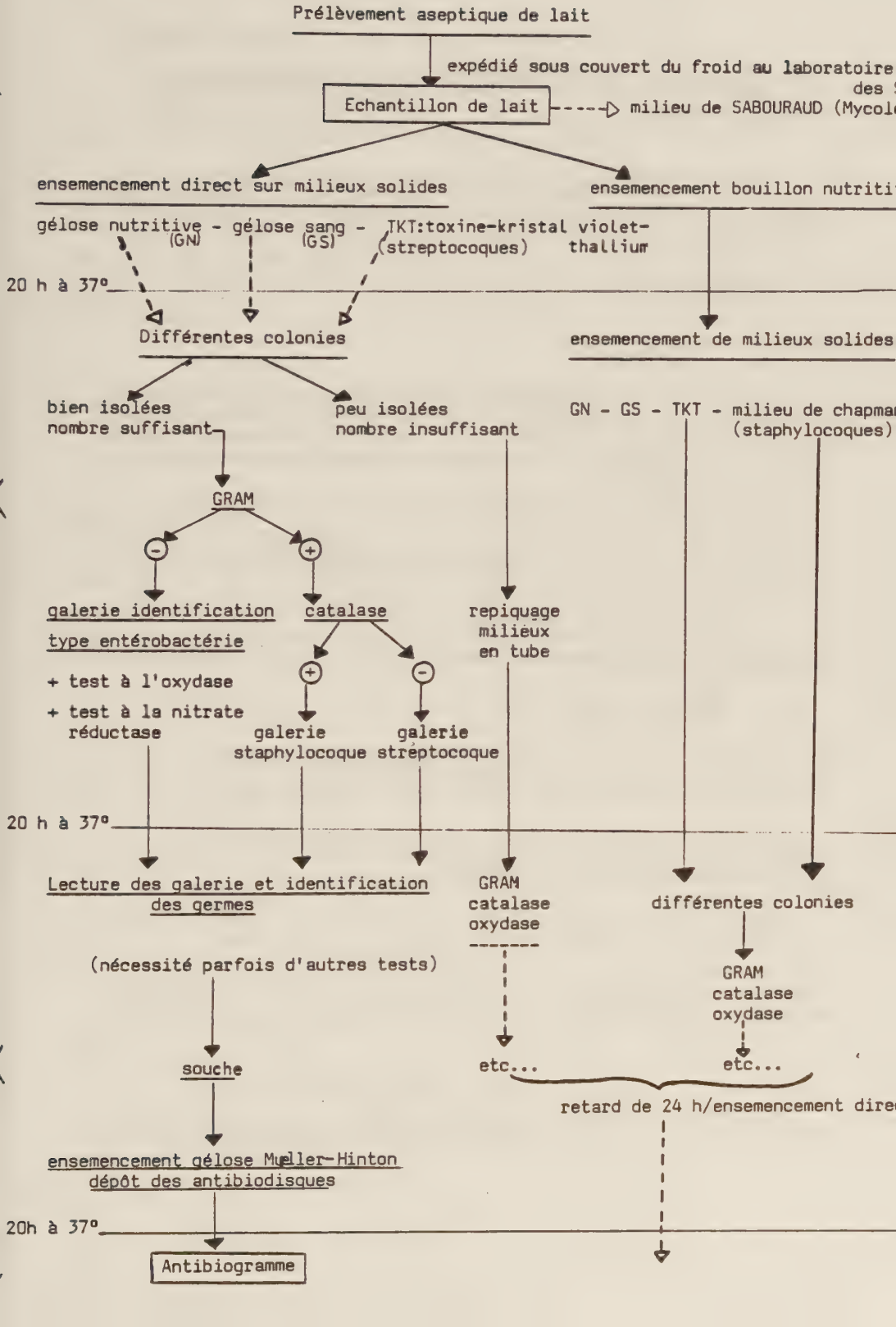
En conclusion, il faut toujours apporter le plus grand soin à la réalisation d'un prélèvement destiné aux examens bactériologiques, d'autant que ces prélèvements constituent, le plus souvent, d'excellents milieux favorables à la prolifération de microorganismes saprophytes variés.

Ils doivent être réalisés aseptiquement et il est nécessaire de maintenir une véritable chaîne du froid, depuis le moment où ils sont effectués sur l'animal, jusqu'au moment où ils parviennent au laboratoire.

Ce sont les seules conditions qui en permettront une exploitation par le laboratoire.

Il faut en outre, apporter le plus grand soin dans la confection du colis d'expédition : il ne faut pas perdre de vue qu'il s'agit de matières biologiques contaminées représentant un danger évident pour les personnes amenées à manipuler le colis.

Enfin, toute l'attention nécessaire doit être apportée à la rédaction de la feuille de commémoratifs : l'orientation des recherches, et donc les résultats en dépendent (58).


Prélèvement aseptique de lait
expédié sous couvert du froid au laboratoire
Echantillon de lait
milieu de SABOURAUD (Mycol
ensemencement direct sur milieux solides
ensemencement bouillon nutriti
gélose nutritive (GN) - gélose sang (GS) - TKT:toxine-kristal violet-thallium (streptocoques)
20 h à 37°
Différentes colonies
ensemencement de milieux solides
bien isolées nombre suffisant
peu isolées nombre insuffisant
GN - GS - TKT - milieu de chapma (staphylocoques)
GRAM
galerie identification type entérobactérie
catalase
repiquage milieux en tube
+ test à l'oxydase
+ test à la nitrate réductase
galerie staphylocoque
galerie streptocoque
20 h à 37°
Lecture des galerie et identification des germes
GRAM catalase oxydase
différentes colonies
(nécessité parfois d'autres tests)
GRAM catalase oxydase
souche
etc...
etc...
retard de 24 h/ensemencement dire
ensemencement gélose Mueller-Hinton dépôt des antibiodisques
20h à 37°
Antibiogramme

II - ISOLEMENT ET IDENTIFICATION DES GERMES DES LAITS DE MAMMITES

Dans ce chapitre nous étudierons les techniques utilisées et les germes identifiés par le Laboratoire des Services Vétérinaires de NANTES à partir des prélèvements de lait.

A) Isolement

1 - Principe

Il est rare qu'un prélèvement contienne un seul genre bactérien. Le plus souvent, la mise en culture de prélèvements révèle la présence de plusieurs bactéries différentes. Or se trouvent mélangées en général, les bactéries responsables de la maladie, des bactéries saprophytes, des bactéries de souillure.

L'isolement des bactéries est sans doute l'étape la plus importante, mais également la plus délicate de toute la microbiologie de laboratoire, d'où l'extrême importance de la réalisation aseptique du prélèvement. L'isolement à partir de prélèvements souillés est plus long, parfois même il est irréalisable.

Il est donc indispensable d'effectuer un isolement pour obtenir les bactéries pathogènes en culture pure, et pouvoir étudier leurs caractères afin de les identifier.

2 - Techniques

L'échantillon de lait reçu au laboratoire est répertorié et conservé au réfrigérateur. Deux types d'ensemencement sont réalisés; ces techniques très classiques ne seront pas exposées dans le détail (54).

- L'ensemencement direct de milieux solides (boîtes de Pétri) : gelose nutritive, gelose au sang, milieu sélectif des streptocoques (TKT : Toxine - Kristal violet - Thallium).

Ces différents milieux ont pour but de permettre la multiplication des germes et leur isolement.

- L'ensemencement d'un bouillon nutritif avec quelques gouttes de lait. Ce bouillon nutritif, ainsi que les boîtes de Pétri ensemencées directement, sont placés à l'étuve à 37° C pendant 24 heures.

Le lendemain, le bouillon nutritif sert à ensemencer les milieux solides.

A partir de ces différents milieux d'isolement, nous obtenons des souches pures qui servent à ensemencer les milieux d'identification.

B) Identification

1 - Principe

A partir de chaque colonie isolée, le laboratoire réalise un examen microscopique à l'état frais et une coloration de Gram.

Mais les caractères morphologiques et culturaux ne suffisent pas à assurer le diagnostic.

Pour une identification précise, le laboratoire recourt donc à la recherche d'un certain nombre de réactions biochimiques ou enzymatiques sur les milieux d'identification, leur ensemble constitue la ''galerie'', qui est en quelque sorte la carte d'identité de la bactérie, c'est-à-dire son chimiotype.

2 - Techniques

a) Identification des bactéries Gram positives

La première recherche effectuée est celle de la catalase.

Les staphylocoques possèdent une catalase, les streptocoques n'en possèdent pas.

- Identification des streptocoques

Jusqu'en 1978, le Laboratoire des Services Vétérinaires de NANTES utilisait une galerie d'identification comprenant la recherche :

. du développement de la souche isolée dans un bouillon hypersalé

. du développement dans le lait de Sherman (à 0,1 % de bleu de méthylène)

. du type d'hémolyse α ou β

. du camp factor.

Et accessoirement, pour différencier les entérocoques entre eux :

. recherche du développement dans un milieu au tellurite (*Streptococcus bovis*)

. recherche du développement dans la gélatine (*Streptococcus faecalis var. liquefasciens*)

Depuis 1979, l'identification est réalisé par le système des galeries API (galeries miniaturisées) qui permet de tester huit enzymes et deux sucres.

- Identification des staphylocoques

Après isolement d'une colonie, ensemencement d'un bouillon trypticase soja qui permet de rechercher :

. la présence d'une coagulase

. la présence d'une phosphatase

. la présence d'une DNase (24 h à 37° C)

. la fermentation du mannitol en anaérobiose (96 h à 37° C)

. la culture dans le bouillon de Moeller à l'arginine (96 h à 37° C)

. la résistance à la novobiocine (*Staphylococcus saprophyticus* est résistant)

b) Identification des bactéries Gram négatives

La plupart des bactéries à Gram négatif, isolées des laits de mammites, appartiennent à la famille des Enterobactériaceae.

Les tests effectués comprennent :

- la recherche de l'oxydase, les entérobactéries sont oxydase négatif

- la recherche de la nitrate réductase

- le milieu mannitol-mobilité, il permet d'apprécier la mobilité de la bactérie et son aptitude à fermenter le mannitol,

- citrate de Simmons : milieu synthétique permettant de juger de l'utilisation ou non du citrate par la bactérie,

- milieu de Kligler-Hajna : permettant de juger de l'utilisation des sucres (glucose et lactose), de la formation de gaz et de H_2S, de rechercher la bêta-galactosidase par utilisation du réactif ONPG,

- urée de Christensen : présence ou absence d'une uréase,

- tube de Durham : permet de déceler la fermentation du glucose et la production de gaz,

- recherche de la lysine-décarboxylase. (LCD).

C) Germes identifiés

Cf. tableau p.18

1 - Streptocoques

- diagnostic de laboratoire :

coques Gram positif, catalase négatif.

S : Streptococcus	Bouillon hypersalé	Réduction du lait de Sherman	Pousse à 45° C	Pousse à 10° C	Hémolysine	Camp factor	Esculine	Gélatine	Milieu au tellurite	groupe de Lancefield
S. pyogenes	-	-	-	-	β	-	+ -	-		A
S. dysgalactiae	-	-	-	-	β - ou	-	+ -	-		C
S. agalactiae	-	-	-	-	-	+	-	-		B
S. uberis	-	-	+	+	α - ou	+	+	-		E
S. bovis	-	-	+	-	α - ou	-	+	-		D
S. faecalis	+	+	+	+	-	-	+	-	+	D
S. faecalis var. liquefasciens	+	+	+	+	-	-	+	+	+	D
S. faecium	+	+	+	+	α - ou	-	+	-	-	D
S. durans	+	+	+	+	β	-	+	-	-	D

- pouvoir pathogène :

. *Streptococcus agalactiae* :

Il est responsable de la mammite streptococcique contagieuse d'étable chez les bovins. Il survit peu à l'extérieur, d'où l'importance de la traite dans la transmission du germe. Certaines génisses peuvent héberger *S. agalactiae* qui déclanche des mammites avant la lactation. Il se transmet à l'homme et vice-versa, *S. agalactiae* a été isolé lors de méningites néonatales. Son pouvoir pathogène justifie l'élimination des laits contaminés, surtout chez les vendeurs de lait cru (27).

. *Streptococcus ubéris* :

Sa présence a une signification plus ambigüe. Il survit bien dans le milieu extérieur, se multiplie sur la peau et dans les voies génitales. Transmis par la traite, sa contagiosité est légèrement inférieure à celle de *S. agalactiae*.

. *Streptococcus dysgalactiae* :

Il survit dans le milieu extérieur et dans les blessures du trayon (importance du trempage). Il est transmis par la traite, sa contagiosité est plus faible. Il est parfois responsable de mammites aigües.

. Streptocoques du groupe D :

Ils sont assez peu souvent responsables de mammites, seulement sur un quartier ou deux, de quelques vaches d'un troupeau, sans tendance à l'extension. Leur rôle pathogène est mal connu.

Dans l'ensemble, les streptocoques déterminent des infections latentes, des mammites chroniques. L'importance des infections à streptocoques semble diminuer légèrement, (cf. tableau p.18); mais elles sont encore bien représentées et leur incidence économique est grande (39).

2 - Staphylocoques

- diagnostic de laboratoire :

coques Gram positif, catalase positif.

S : Staphylococcus	Coagulase	Milieu DNase	Phosphatase	Mannitol en anaérobiose	Bouillon de Moeller à l'arginine
S. aureus	+	+	+	+	-
S. aureus (coagulase -)	-	+	+	+	-
S. epidermidis	-	-	- +	-	-
S. epidermidis (80 % sont DNase +)	-	+	- +	-	-
S. epidermidis (peu fréquent)	-	-	+	-	-
Micrococcus	-	-	- +	-	+

- pouvoir pathogène :

Staphylococcus aureus est responsable des mammites staphylococciques chez les bovins, *S. epidermidis* et *S. saprophyticus* (coagulase -, DNase -, résistant à la novobiocine) sont classiquement considérés comme peu pathogènes.

En ce qui concerne l'analyse de corrélation entre maladie et isolement bactériologique, la coagulase constitue un bon caractère (mais déterminé *in vitro*). En effet, la coagulase favorise l'enkystement du corps microbien et le met à l'abri des défenses de l'organisme.

Staphylococcus aureus existe dans la mamelle, sur la peau (mains du vacher), survit et se multiplie sur le caoutchouc (transmission par la traite).

L'infection à staphylocoques, il y a 25 ou 30 ans, pouvait être considérée comme sporadique, or de plus en plus, nous assistons à l'évolution d'enzooties de mammites staphylococciques. L'infection mammaire à staphylocoques chez la vache, est pratiquement la seule capable de se traduire dans une même exploitation par la forme suraigüe gangréneuse (rare); la forme aigüe (plus fréquente) avec émission d'un lait purulent, plus ou moins hémorragique; la forme chronique avec phénomènes suppuratifs et un délabrement considérable d'un ou plusieurs quartiers (39).

Le traitement s'avère difficile lors de formes suraigües ou chroniques.

Notons qu'il existe parfois une discordance entre les résultats obtenus *in vivo* et ceux obtenus *in vitro* : des anti-infectieux actifs *in vitro* se révèlent inactifs *in vivo*. Le taux limité de guérison des infections staphylococciques provient peu de l'antibiorésistance (sauf à la pénicilline), mais surtout de la nature des lésions de la mamelle qui empêchent la diffusion de l'antibiotique (53).

3 - Entérobactéries

- diagnostic de laboratoire :

. bacilles à Gram négatif,

. mobiles par ciliature péritriche ou immobiles,

. poussent sur milieu ordinaire,

. aéroanaérobie,

. oxydase négatif,

. nitrate réductase positif,

. glucose positif.

	Mobilité	Gaz en glucose	Lactose	β-galactosidase	H_2S	Uréase	T.D.A.	Indole	L.C.D.	Citrate	Mannitol
Citrobacter	+	+	x	+	+	+ / -	-	-	-	+	+
Escherichia coli	+ / -	+	+	+	-	-	-	+	d	-	+
Klebsiella	-	+	+	+	-	+	-	-	d	+	+
Enterobacter	+	+	+ / x	+	-	-	-	-	d	+	+
Serratia	-37° +25°	d	x	+	-	-	-	-	+	-37° +25°	+
Proteus	+	+	-	-	+	+	+	+	-	d	-
Arizona	+	+	x	+	+	-	-	-	+	+	+

d : douteux x : caractère d'apparition tardive

T.D.A. : réalisé pour les germes possédant une uréase, du perchlorure de fer dans l'urée-indole donne une réaction positive s'il s'agit d'un *Proteus*.

- pouvoir pathogène :

Les entérobactéries sont des germes hôtes de l'intestin, celles isolées de laits de mammites sont habituellement saprophytes, mais placées dans des conditions propices elles deviennent pathogènes (22).

Escherichia coli est le plus souvent isolée des prélèvements, elle est responsable d'une mammite aigüe apparaissant dans les semaines qui suivent la parturition avec des troubles digestifs et parfois des complications d'ordre nerveux (forme paraplégique) (39).

Mais sont également isolés des *Enterobacter, Klebsiella, Proteus, Serratia, Arizona*. Le terme de mammites à entérobactéries peut être utilisé, bien que le rôle pathogène des différents agents ne soit pas très bien connu.

Les mammites à entérobactéries habituellement considérées comme sporadiques deviennent plus fréquentes. Ceci est dû à une cause certaine : le mode d'exploitation.

Les mammites colibacillaires sont fréquentes dans les troupeaux sélectionnés à haute production. Les animaux vivent souvent en stabulation libre avec une litière sale et peu abondante qui constitue un milieu de choix pour le développement des entérobactéries (39).

L'alimentation à base d'ensilage et comprenant souvent de fortes proportions de concentrés favorise les troubles digestifs avec émission de fécès diarrhéiques riches en entérobactéries qui iront coloniser le trayon. Par ailleurs, une ration hyperazotée pourrait inhiber la formation des acides gras insaturés de l'épithélium du canal du trayon, ces acides gras ayant un effet bactériostatique sur les germes de l'infection mammaire (57).

D'autre part, la présence dans la mamelle de coques à Gram positif, peu ou pas pathogènes, induit une leucocytose qui empêche l'implantation des entérobactéries. La rupture de l'équilibre de la flore dans le quartier et le trayon par les traitements systématiques qui matraquent ces germes, laisse le champ libre aux entérobactéries (22).

Le cas d'*E. coli* constitue un bon exemple pour illustrer l'importance d'un prélèvement correct. En effet, lorsqu'un prélèvement contient simultanément *E. coli* et un germe certainement contaminant exogène (streptocoque fécal) ou *E. coli* et un germe spécifique (streptocoque, staphylocoque) alors *E. coli* peut aussi bien avoir une signification qu'être contaminant. Ce germe occasionnellement pathogène pour lequel nous ne disposons pas de critères authentiques de virulence complique le problème. Cependant l'antibiogramme peut aider à présumer de la signification étiologique d'un germe, occasionnellement ou non, spécifiquement pathogène (52). Les germes qui révèlent le plus d'antibiorésistances *in vitro* sont souvent ceux qui présentent le plus grand pouvoir pathogène sur le terrain.

4 - Autres germes

- *Pseudomonas aeruginosa* :

Germe aérobie strict, peu exigeant, il montre une grande tolérance thermique. Ce germe très répandu dans la nature est très souvent résistant aux antibiotiques. Les mauvaises conditions d'entretien là encore, sont propices à l'installation du germe dans la mamelle (22).

- *Corynebacterium pyogenes* :

Il est responsable de foyers de suppuration dans la mamelle; rarissime en France, mais en extension.

La transmission du germe de bovin à bovin s'effectue par des insectes (mouches, Stomox, moustiques).

	D	C	E	B	TOTAL	*S. aureus*	*S. epidermidis*	TOTAL	*E. coli*	*Enterobacter*	*Citrobacter*	*Klebsiella*	*Proteus*	*Serratia*	*Arizona*	TOTAL	*Corynebacterium pyogenes*	*Pseudomonas*	*Micrococcus*	*Levinea*	*Bacillus*	TOTAL	ANTIBIOGRAMMES
1970	7	4			11	10	11	21	10	3	1				1	15	1					1	49
1971	7	5			12	10	4	14	11	2		2	1			16	1	1				2	44
1972	10	21			31	10	5	15	6	3		1		1		11		2				2	59
1973	17	26			43	15	10	25	10	3		1	1			15	1				1	2	85
1974	31	34			65	30	30	60	31	5			1	1		38	1	3	1	3		8	171
1975	52	29			81	46	41	87	45	13	3		2	4		67	1	2		2		5	240
1976	30	18	5	1	54	36	18	54	22	8		2	2			34		3	2	3		8	150
1977	11	24	12	1	48	33	12	45	10	1	5	1				17	1			1		2	112
1978	17	22	5	8	52	58	9	67	37	2	1			1		45	2					2	162
TOTAL	182	64	141	10	397	248	140	388	182	40	10	7	7	7	1	254	8	11	3	9	1	32	1071

III - ANTIBIOGRAMME

L'antibiogramme se définit comme la recherche *in vitro* de la sensibilité des bactéries aux antibiotiques. Cette épreuve est souvent l'objectif principal du diagnostic bactériologique en médecine vétérinaire.

D'un point de vue utilitaire, cette épreuve tire son importance : de l'efficacité et de la rapidité du traitement conduit avec le meilleur antibiotique, du danger qu'il y a à utiliser aveuglément des antibiotiques (inefficacité, coût, risque de sélectionner des résistants).

Il est donc souvent indispensable au praticien de connaître l'antibiotype des bactéries afin de pouvoir mettre en oeuvre une thérapeutique appropriée et efficace. Il est à regretter que le praticien n'ait pas plus souvent recours à l'analyse d'un échantillon de lait avant traitement.

A) Principe - Bases théoriques

L'antibiogramme a pour but de reconnaître, parmi les antibiotiques disponibles (et économiquement utilisables) celui qui inhibe le mieux la culture du germe isolé (en cause chez un malade déterminé, source de prélèvement).

1 - Définition de la CMI d'un antibiotique vis-à-vis d'un germe

La concentration minimale inhibitrice (CMI) est la plus faible concentration d'antibiotique capable d'inhiber, dans un milieu, toute culture visible de la souche étudiée.

Cette inhibition de culture ne signifie pas obligatoirement mort des bactéries (bactéricidie) mais toujours arrêt de la croissance et de la multiplication (bactériostase). La CMI permet donc de mesurer l'effet bactériostatique ou bactéricide de l'antibiotique sur le germe.

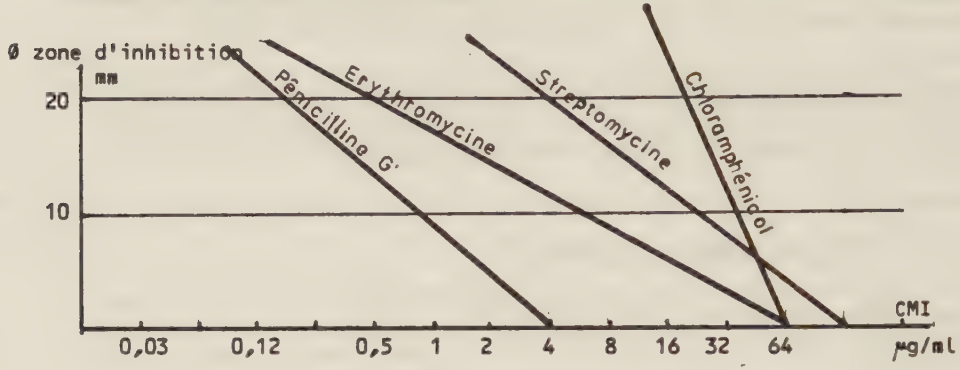
2 - Mesure de la CMI

Nous décrirons la méthode de diffusion en gélose ou méthode des disques dite ''antibiogramme standard'' (3,23,26).

Cette méthode consiste à déposer à la surface de la gélose d'une boîte de Pétri des disques de papier buvard imprégnés d'une quantité connue de différents antibiotiques. Ces antibiotiques passent dans la gélose, y diffusent, et il se réalise ainsi un gradient de concentration d'antibiotique. Au contact du disque, il y a une forte concentration et au fur et à mesure que l'on s'éloigne de ce disque, la concentration diminue.

Avant de mettre les disques, la boîte de gélose est ensemencée uniformément, avec une souche bactérienne pure, après 24 heures d'étuve à 37° C, les bactéries se sont développées et ont formé un ''gazon'' bactérien uniforme sur toute la surface de la gélose, sauf sur des zones circulaires de diamètre variable, disposées autour des disques contenant un antibiotique plus ou moins actif sur ce germe.

La mesure du diamètre de la zone d'inhibition permet de connaître la CMI. Pour mesurer cette CMI il suffit au préalable d'étalonner le système disque antibiotique - gélose avec un certain nombre de souches bactériennes (une soixantaine en pratique) de CMI connue après utilisation des méthodes de dilution (la détermination de la CMI en milieu liquide n'est jamais faite par les laboratoires de diagnostic, mais toujours par les Instituts producteurs d'antibiotiques). La mesure du diamètre de la zone d'inhibition obtenue pour chacune des souches permet de tracer la ''courbe de concordance'' qui est en pratique la droite donnant la correspondance entre les CMI et les diamètres des zones d'inhibition.



- Courbes de concordance - (8)

Pour déterminer la CMI d'un antibiotique, il suffit de mesurer le diamètre de sa zone d'inhibition, et de reporter ce chiffre sur le graphique pour en déduire la CMI.

Il faut remarquer qu'une courbe de concordance n'est valable que pour un type de disque donné, car plus la charge du disque en antibiotique est grande, plus grande est la zone d'inhibition.

La méthode est sensible à la variation de divers facteurs et en particulier la diffusion de l'antibiotique dans la gélose. C'est pourquoi, tout doit être bien standardisé.

- qualité du milieu : milieu de Mueller-Hinton
- quantité du milieu : gélose de 4 mm d'épaisseur
- quantité d'antibiotique dans le disque
- importance de l'inoculum, en fonction de la vitesse de croissance des germes.

3 - Interprétation de la CMI

Nous avons vu précédemment que, par définition, la CMI permet de mesurer l'effet bactériostatique ou bactéricide de l'antibiotique sur le germe.

Cette notion de CMI est une notion obtenue *in vitro* et qui par conséquent doit être comparée à la concentration d'antibiotique qu'il est possible d'obtenir chez les malades au siège de l'infection (52).

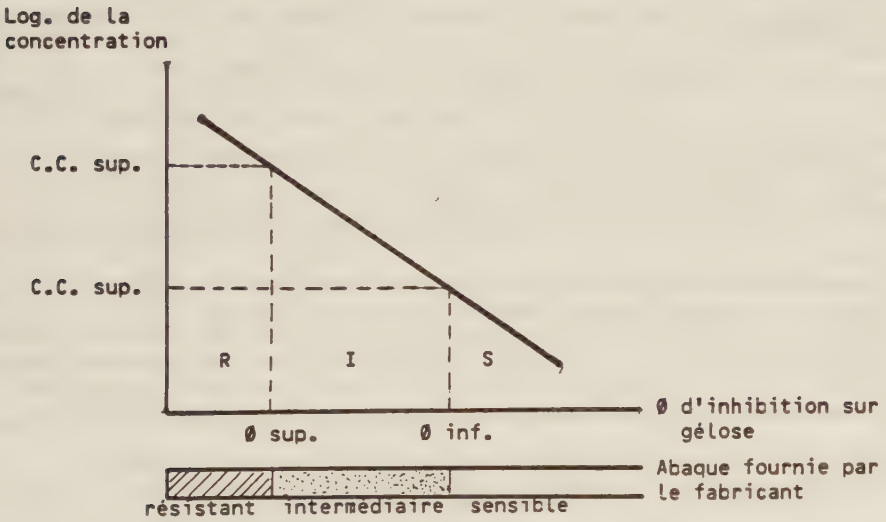
En fait, il faut, le plus souvent, extrapoler à partir des données de la médecine de l'homme et des concentrations au niveau sanguin seulement, puisqu'il est très difficile, sinon impossible, de connaître la concentration d'antibiotique au niveau des divers tissus de l'organisme vivant ou malade. Les mesures de concentrations antibiotiques dans le sang des espèces animales n'ont été faites que dans quelques cas.

Ces comparaisons doivent tenir compte :

- de la pharmacodynamie de l'antibiotique,

- de la situation des bactéries dans l'organisme : tissu plus ou moins vascularisé, concentration d'antibiotiques par certains organes, l'atteinte des émonctoires du malade modifie considérablement le métabolisme de l'antibiotique (52).

Pour résoudre ces différents problèmes, il a été convenu arbitrairement que la concentration des antibiotiques aux lieux des infections est égale à la concentration sérique moyenne obtenue chez un individu moyen avec des doses moyennes de l'antibiotique. Cette valeur est appelée concentration critique, elle est comprise entre deux valeurs extrêmes : la concentration critique supérieure et la concentration critique inférieure. Ces deux valeurs sont d'ordre purement expérimental. Ces points peuvent être reportés sur une droite reliant le logarithme de la concentration d'antibiotique au diamètre d'inhibition de la culture sur boîte de Pétri par la méthode des disques(8).



Si la CMI de l'antibiotique pour le germe considéré est supérieure à la concentration critique supérieure obtenue avec ce même antibiotique dans le sang du malade, le germe sera toujours résistant à cet antibiotique puisqu'il rencontrera toujours à son contact une dose d'antibiotique inférieure à la CMI, et inversement si la CMI est inférieure à la concentration critique inférieure.

Dénomination commune	Code	charge en µg ou unités	Ø zone d'inhibition		concentration critique (C) en µg/ml
			résistant	sensible	
B-LACTAMINES					
Pénicilline G	P	10	< 14	⩾ 14	4
Ampicilline	AM	10	< 16	⩾ 16	8
Cloxacilline	CX	1	< 15	⩾ 15	3
AMINOSIDES					
Streptomycine	S	10	< 13	⩾ 13	16
Néomycine	N	30	< 15	⩾ 15	16
Kanamycine	K	30			
Gentamicine	GM	10	< 15	⩾ 15	6
TETRACYCLINES					
Tetracycline	TE	30	< 23	⩾ 23	2
Oxytétracycline	T	30			
Chlortétracycline	A	30			
MACROLIDES et Apparentés					
Erythromycine	E	15	< 15	⩾ 15	4
Spiramycine	SP	100	< 15	⩾ 15	4
Virginiamycine	SA	15	< 15	⩾ 15	4
PHENICOLS					
Chloramphénicol	C	30	< 15	⩾ 15	15
RIFAMYCINES					
Rifamycines	RF	30	< 16	⩾ 16	4
DIVERS					
Novobiocine	NB	30	< 11	⩾ 11	20
POLYPEPTIDES					
Polymyxine B	PB	300 U	< 8	⩾ 8	6
Colistine	CL	10	< 8	⩾ 8	6
NITROFURANES					
Nitrofurantoïne	FM	300	< 16	⩾ 16	
Furazolidone	FM	100	< 16	⩾ 16	
SULFAMIDES					
Sulfamethizol	SZ	1,0 mg	< 25	⩾ 25	
Sulfaméthoxypiridazine	SX	1,0 mg	< 25	⩾ 25	
Trimethoprime sulfaméthoxazole	SXT	T 1,25 SX 23,75	< 13	⩾ 13	

B) Technique

Les méthodes utilisées par le Laboratoire de NANTES ont varié dans le temps. Cependant depuis 1972, le laboratoire utilise les bio-discs de l'Institut Mérieux et récemment (en 1979) ceux de l'Institut Pasteur.

Nous décrirons la technique relative à l'emploi des bio-discs de l'Institut Mérieux, puisque la majorité des antibiogrammes analysés a été obtenue à l'aide de ces disques.

1 - Milieu de Mueller-Hinton

Il est considéré actuellement comme le milieu de référence le plus satisfaisant. Les taux de calcium et de magnésium doivent correspondre aux normes préconisées, car des variations importantes entraînent des erreurs de lecture significatives.

Pour certains germes, dont la culture est difficile, il est recommandé d'utiliser des milieux enrichis (Mueller-Hinton au sang de mouton pour les streptocoques par exemple).

2 - Disques imprégnés

Les bio-discs sont constitués par des disques de papier absorbant de 6 mm de diamètre. Ils sont imprégnés par des quantités de substances actives bien déterminées.

L'étude porte sur 23 anti-infectieux qui sont testés depuis 10 ans environ (cf. tableau p.22).

3 - Préparation de l'inoculum et ensemencement

L'ensemencement est réalisé par inondation.

A partir d'une culture pure, repérer 4 à 5 calories bien isolées sur boîte de Pétri, du germe à étudier. Les émulsionner dans 1 ml de bouillon de culture dans un tube à hémolyse, de façon à avoir une culture d'opacité voisine de celle d'une culture de 16 à 18 heures.

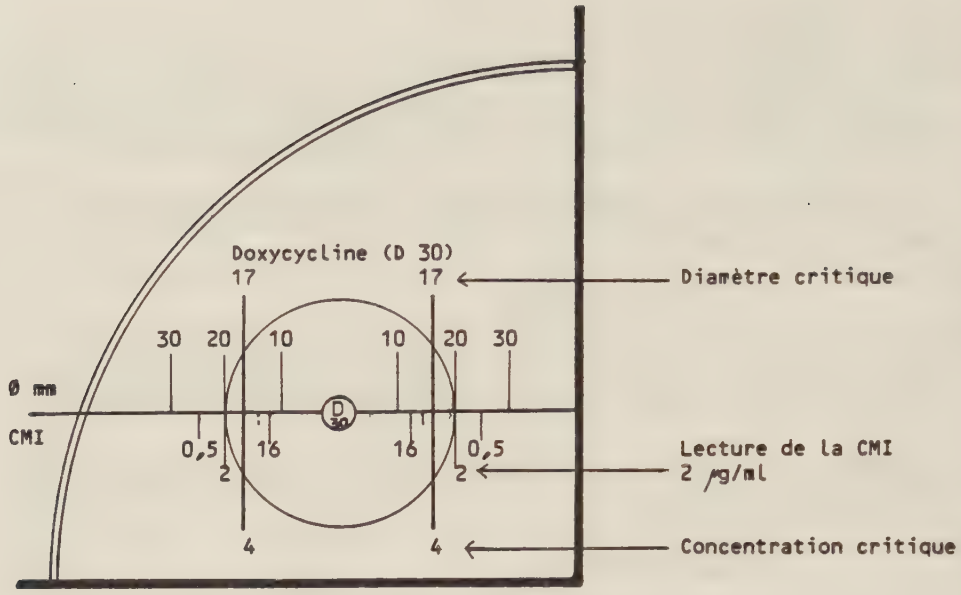
A partir de la suspension ou d'une culture de 16 à 18 heures, effectuer des dilutions convenablement adaptées de façon à avoir une culture dense mais non totalement confluente : dilution au 1/1000 pour les entérobactéries et autres bacilles à Gram négatif; au 1/100 pour les staphylocoques et les entérocoques (streptocoques du groupe D); au 1/10 pour les streptocoques.

Verser quelques millilitres de la dilution obtenue sur la gélose de façon à inonder complètement la surface du milieu (2 à 5 ml). Réaspirer l'excès de liquide le plus complètement possible. Sécher la boîte 15 minutes à 37° C (préincubation).

4 - Dépôt des disques et incubation

Ces disques sont déposés sur la gélose généralement à l'aide de distributeurs. Dans tous les cas, ils doivent bien adhérer à la gélose et être disposés de telle façon que les zones d'inhibition ne se chevauchent pas et que la distance du bord de la boîte soit de 15 mm minimum.

Retourner les boîtes et les mettre à incuber pendant 18 à 24 h. à 37° C.



Lecture : Ø = 20 mm
CMI = 2 µg/ml

Interprétation : sensible

- <u>Utilisation de l'antibiodiagramme®</u> - (bioMérieux)

. Placer la boîte de Pétri sur la réglette en superposant l'un après l'autre chaque disque sur le diagramme correspondant.

. Lire par transparence le diamètre de la zone d'inhibition et la CMI correspondante.

. Interprétation correspondante :
Résistant (R) pour toute zone inférieure au diamètre critique
Sensible (S) pour toute zone supérieure au diamètre critique.

5 - Lecture et interprétation

La connaissance du diamètre minimal des zones de sensibilité (diamètre critique) permet une approximation de la CMI, celle-ci n'étant connue avec précision que par les méthodes de dilution.

Plusieurs méthodes sont employées pour l'interprétation de l'antibiogramme utilisant la mesure des diamètres des zones d'inhibition. La tendance actuelle, celle que nous avons suivie, consiste en une interprétation binaire : sensible ou résistant, les réponses intermédiaires étant incluses dans les résistants.

En effet, en pratique courante, l'interprétation de cette catégorie ''intermédiaire'' n'est pas claire et exigerait à tout le moins, que pour toute souche classée dans cette catégorie la CMI de l'antibiotique soit déterminée par une méthode directe (CMI en milieu liquide), avant d'en préconiser l'usage thérapeutique (61).

Limites de la méthode

Le diamètre des zones d'inhibition est proportionnel à la sensibilité du germe à étudier et permet une détermination objective de l'efficacité de l'antibiotique. Ce principe n'est pas applicable aux polymyxines et aux sulfamides en raison de leur diffusibilité particulière.

En effet, certains antibiotiques comme la colistine, diffusent assez mal en milieu gélosé et les résultats qu'ils permettent d'obtenir ne sont que très approximatifs (61). Il importe alors de déterminer la sensibilité des germes par la méthode de dilution, surtout si ces agents antimicrobiens sont proposés pour une thérapeutique par voie générale.

Quant aux sulfamides, en raison de leur grande diffusibilité, un phénomène de ''repousse'' peut se produire à l'intérieur de la zone d'inhibition.

La sensibilité des germes très exigeants à culture lente, et des anaérobies, ne peut pas être testée par cette méthode.

Certains *Staphylococcus aureus* présentent une résistance hétérogène. Ces souches montrent une résistance accrue aux pénicillines, on peut les détecter en utilisant des disques d'oxacilline avec incubation à 30° C sur milieu de Mueller-Hinton avec 5% de NaCL. Les souches résistantes à l'oxacilline doivent être considérées potentiellement comme résistantes à tout le groupe des pénicillines.

6 - Causes d'erreurs

Ces causes d'erreurs affectent la validité des résultats d'un antibiogramme par la méthode des disques.

. utilisation d'un milieu autre que le Mueller-Hinton,

. préparation incorrecte du milieu Mueller-Hinton, spécialement ommission de la mesure PH au moment de la préparation,

- utilisation d'un milieu périmé ou de boîtes mal conservées,
- mauvaise conservation des disques,
- manque de standardisation ou standardisation inadéquate de la densité de l'inoculum,
- mauvaise préparation ou conservation du standard d'opacité,
- inoculum trop dense (méthode d'inondation) ou excédent d'inoculum lors de l'inondation des boîtes,
- temps d'attente trop long entre les différentes étapes de la manipulation,
- incubation à température différente de 37° C,
- lecture prématurée avant 18 heures d'incubation,
- erreur dans la mesure des zones d'inhibition,
- utilisation de cultures mixtes ou contaminées,
- utilisation de cette méthode pour les germes à culture lente ou pour les anaérobies,
- absence de contrôle de qualité avec des souches tests,
- erreur de lecture ou de transcription.

En conclusion à ce chapitre, il est important de rappeler que l'obtention d'un antibiogramme nécessite plusieurs jours (4 jours au moins) à partir de la réception du prélèvement.

La valeur du prélèvement conditionne en grande partie la durée nécessaire à la réalisation de l'antibiogramme. En effet, plus le prélèvement contient de germes, plus l'isolement et l'identification sont difficiles et longs.

Le prélèvement est reçu par le laboratoire environ 24 heures après l'expédition par la poste. L'enregistrement, les examens directs sont effectués le jour de la réception.

L'isolement en culture pure est réalisé le lendemain et nécessite 24 heures dans le meilleur des cas (Cf. diagramme p.9). L'identification également demande 24 heures pour les germes courants, mais souvent davantage lors de la mise en oeuvre de tests complémentaires pour une identification plus précise. Donc de la réception du prélèvement par le laboratoire à l'identification du ou des germes, il s'écoule en moyenne de 3 à 5 jours.

Ensuite, la réalisation de l'antibiogramme demande 24 heures de plus.

Par conséquent entre l'expédition du prélèvement et la réception de l'antibiogramme par le praticien, il s'écoule au minimum 6 jours (prélèvement correct, avec peu de germes, bien identifiables) et souvent 7 à 8 jours (prélèvement souillé ou plurimicrobien, ou envoyé un vendredi).

FICHE DE RÉSULTATS ANTIBIOGRAMME

NOM _____ RÉF. _____

PRÉNOM _____ DATE _____

EXAMEN DEMANDÉ PAR _____

SERVICE _____

NATURE DU PRÉLÈVEMENT _____

GERME ISOLÉ _____

Cachet du laboratoire

(1) En perfusion, concentration pouvent être beaucoup plus forte.
(2) En perfusion seulement.
(3) En injection I.M. ou I.V. : 15-20 µg/ml.
(4) En injection I.M. : 5-15 µg/ml.
(5) En injection I.V. : 18 µg/ml.

Remarque : les valeurs des concentrations sériques (au pic) indiquées sont des valeurs moyennes, la plus forte concentration citée étant :
- pour les antibiotiques toxiques, une valeur limite,
- pour les autres antibiotiques, une valeur difficile à dépasser dans le sérum par les voies d'administration habituelles.

Pour certains antibiotiques, des concentrations supérieures peuvent être obtenues mais ne peuvent être maintenues lors d'un traitement continu.

		Nom de l'antibiotique	Dénomination commerciale (à titre indicatif)	INTERPRÉTATION R résistant	INTERPRÉTATION S sensible	INTERPRÉTATION CMI µg/ml	CC concentration critique µg/ml	Concentrations sériques (au pic) µg/ml
β LACTAMINES	Pénicillines groupe G	Pénicilline G	Spécilline/Oracilline/ Synthécilline/Rixepen/ Extencilline/Pénextilline				4	0,1 - 16(1)
	Pénicillines groupe A	Ampicilline	Pénicline/Penbritine/ Totapen				8	4 - 16
		Métampicilline	Suvipen/Magnipen					
		Epicilline	Dexacilline					
		Amoxicilline	Clamoxyl/Hiconcil					
	Pénicillines groupe M	Méthicilline ou Diméthoxyphénylpénicilline	Méthicilline/Flabelline/ Pénistaph				3	1 - 16
		Oxacilline	Bristopen				3	1 - 10
		Cloxacilline	Orbénine/Cloxypen/ Staphybiotic					
		Carbénicilline	Pyopen				250	250(2)
	Céphalosporines	Céphalotine	Kéflin				16	8 - 32
		Céphaloridine	Céporine/Kéflodin					
		Céphalexine	Céporexine/Kéforal					
		Céfazoline	Kefzol/Céfacidal					
AMINOSIDES		Streptomycine					16	15 - 30
		Néomycine					16	15 - 20
		Paromomycine	Humatin					
		Kanamycine	Kamycine					
		Amikacine	Amiklin				20	20 - 25
		Lividomycine	Livaline				12	10 - 15
		Gentamicine	Gentalline				6	4 - 8
		Tobramycine	Nebcine				6	4 - 8
TETRACYCLINES		Tétracycline	Hexacycline/Tétracyne/ Sanclomycine				2	1 - 2
		Oxytétracycline	Terramycine					
		Métacycline	Rondomycine/Mégamycine					
		Déméthylchlortétracycline (D.M.C.T.)	Ledermycine					
		Chlortétracycline	Auréomycine					
		Doxycycline	Vibramycine				4	2 - 4
		Minocycline	Mynocine				4	2 - 4

	Nom de l'antibiotique	Dénomination commerciale (à titre indicatif)	INTERPRÉTATION R résistant	INTERPRÉTATION S sensible	INTERPRÉTATION CMI µg/ml	CC concentration critique µg/ml	Concentrations sériques (au pic) µg/ml
MACROLIDES et apparentés	Erythromycine	Propiocine/Abboticine				4	0,2 - 4
	Oléandomycine	T.A.O.				4	0,2 - 4
	Spiramycine	Rovamycine				4	0,2 - 6
	Pristinamycine	Pyostacine				4	0,2 - 6
	Virginiamycine	Staphylomycine					
	Lincomycine	Lincocine				4	2 - 8(3)
	Clindamycine	Dalacine				4	2 - 4(4)
PHÉNICOLS	Chloramphénicol	Chloromycétine/Tiformycine/ Solnicol				15	5 - 20
	Thiamphénicol	Thiophénicol					
RIFAMYCINES	Rifamycine SV	Rifocine				4	
	Rifampicine	Rifadine/Rimactan				4	4 - 10
DIVERS	Novobiocine	Cathomycine				20	15 - 50
	Acide Fusidique	Fucidine				20	5 - 20
	Vancomycine	Vancocine				20	20 - 25
POLYPEPTIDES	Polymyxine B	Arémyxine				6	2 - 6(5)
	Colistine	Colimycine					
	Bacitracine					6	
NITROFURANES	Furadoine	Furadantine/ Nitrofurantoïne/ Furoxane/ Furazolidone					
QUINOLONES	Acide Nalidixique	Négram					
	Acide Pipémidique	Pipram					
	Acide Oxolinique	Urotrate					
	Nibiol	Nitroxoline					
SULFAMIDES	Sulfadiazine	Adiazine					
	Sulfafurazol	Gantrisine					
	Sulfaméthizol	Rufol					
	Sulfaméthoxypiridazine	Sultirène					
	Sulfathiazol	Thiazomide					
	Triméthoprime-sulfaméthoxazole	Bactrim/Eusaprim					

RESULTATS ET DISCUSSIONS

Ce chapitre présente les anti-infectieux testés et les graphiques obtenus après analyse des antibiogrammes réalisés à partir des laits de mammites depuis 1970.

La réalisation de ces graphiques appelle quelques commentaires :

Tout d'abord, ces courbes ne concernent que trois types de germes : staphylocoques, streptocoques et *Escherichia coli* qui représentent plus de 80% des antibiogrammes (Cf. tableau p. 18).

Chaque anti-infectieux est étudié séparément : l'étude porte sur l'activité (pourcentage de germes sensibles) de l'anti-infectieux vis-à-vis de chacun des trois germes.

Le nombre de germes sensibles est noté chaque année et converti en pourcentage. Il est bien évident que plus le nombre de résultats annuels est faible, plus l'incertitude sur le pourcentage de germes sensibles est grande. Les courbes seront donc plus difficilement interprétables pour les années 1970, 1971 où le nombre d'antibiogrammes effectués reste faible (surtout pour les streptocoques).

Avant d'analyser le cas de chaque anti-infectieux testé, nous envisagerons le rappel des mécanismes de l'antibiorésistance.

I - MECANISMES DE L'ANTIBIORESISTANCE

La résistance peut être soit naturelle, soit acquise :

La résistance naturelle, constitutive, se présente comme un caractère d'espèce, stable, existant avant tout contact avec l'antibiotique, et elle touche tous les individus et toutes les souches (entérobactéries et pénicilline G par exemple).

La résistance acquise est, au contraire, un phénomène accidentel survenant dans une population initialement sensible. Cette acquisition peut se faire par deux procédés totalement différents : soit par mutation, soit par introduction d'un plasmide de résistance.

A) Génétique de la résistance

Nous étudierons successivement les deux mécanismes génétiques qui permettent l'acquisition de la résistance à un antibiotique. L'un a pour support le chromosome, et définit une résistance chromosomique, l'autre est situé hors du chromosome et définit une résistance extrachromosomique (plasmidique).

1 - Résistance chromosomique

Les gènes interviennent comme support des caractères de résistance au niveau du chromosome unique. Ce sont des caractères analogues à tous les caractères transmissibles, c'est-à-dire qu'ils peuvent être transmis par transformation, transduction, recombinaison génétique.

La résistance chromosomique est due à une mutation sur le chromosome bactérien et possède toutes les propriétés des mutations, elle est donc :

- rare :
le taux de mutation s'échelonne entre 10^{-5} et 10^{-10}, c'est une constante de la souche.

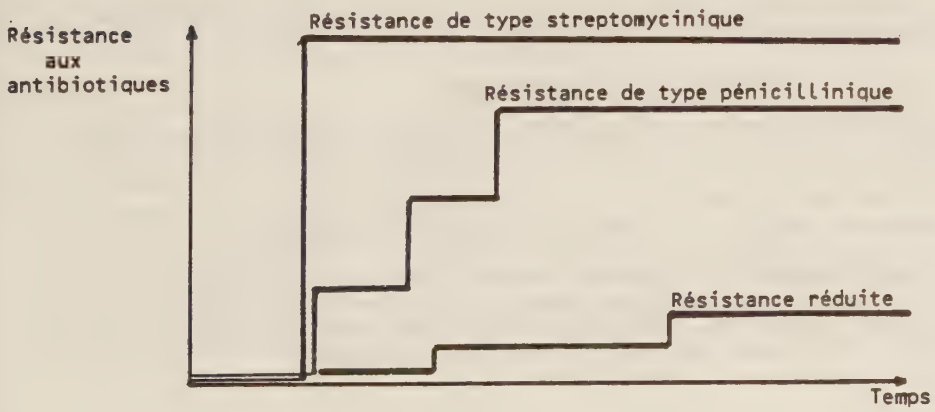
- spontanée :
c'est-à-dire indépendante de l'antibiotique, qui n'agit que comme agent sélecteur.

- discontinue :
il existe trois types d'acquisition de la résistance chromosomique selon qu'elle s'effectue en un ou plusieurs échelons :

. acquisition en un échelon :
une seule mutation provoque d'emblée une résistance élevée à l'antibiotique, le rapport avec la sensibilité initiale pouvant aller jusqu'à 100 ou 200 selon NEUMAN. Ce type de mutation se rencontre surtout avec les antibiotiques suivants : streptomycine, novobiocine, érythromycine, rifamycines.

. acquisition en plusieurs échelons :
dans ce cas une série de mutations va provoquer l'apparition d'une résistance par étapes. Il existe ainsi des mutants intermédiaires dits de premier échelon, deuxième échelon, etc... jusqu'à la résistance maximale. Ce type d'acquisition s'observe essentiellement avec les pénicillines, céphalosporines, aminosides autres que la streptomycine, tétracyclines, chloramphénicol, synergistines (47).

. résistance très lente et très peu élevée :
avec la vancomycine et certains antifongiques (griséofulvine, amphotéricine, nystatine).



- stable :
la résistance acquise par mutation est héréditaire, ce qui ne veut pas dire définitive. En effet des mutations réverses, permettant le retour à la sensibilité, sont possibles mais rares.

- spécifique et indépendante :

. spécifique :
chacune affecte un caractère déterminé à l'exclusion de tout effet sur des caractères qui dépendent d'autres mutations.

. indépendante :
le fait pour une bactérie de subir une mutation donnée ne modifie ni sa capacité ni sa probabilité de subir une autre mutation affectant un autre caractère. Une mutation vers la résistance à un antibiotique modifie ce seul caractère et aucun autre.

La probabilité d'une mutation double, concernant deux antibiotiques à la fois, est extrêmement faible puisqu'elle est le produit de deux possibilités et justifie par conséquent les associations d'antibiotiques (21).

Cela est vrai dans la majorité des cas, mais il n'est pas exceptionnel que certaines modifications accompagnent la mutation vers la résistance. Les modifications structurales ou métaboliques liées à la mutation sont la cause de variations : dans la forme, la taille des colonies, dans le taux de croissance, dans le pouvoir pathogène.

D'une manière générale, le taux de croissance des mutants de titre élevé est souvent inférieur à celui des bactéries sensibles. Cette observation permet de comprendre que la population bactérienne résistante est en générale dominée par la flore sensible, équilibre qui sera totalement modifié par l'utilisation d'antibiotiques.

L'importance clinique semble mineure, la mutation ne rend compte que de 10 à 20% des souches résistantes rencontrées en clinique. Mais certaines bactéries n'acquièrent de résistance que par mutations (bacille tuberculeux, *Brucella*) et certains antibiotiques n'entraînent que des résistances chromosomiques (rifamycines, novobiocine, nitrofuranes).

Il n'en va pas de même pour des résistances acquises et transmises par plasmides dont l'importance est très grande.

2 - Résistance extrachromosomique

Elle représente le mode de résistance pour 80 à 90% des souches résistantes isolées (21).

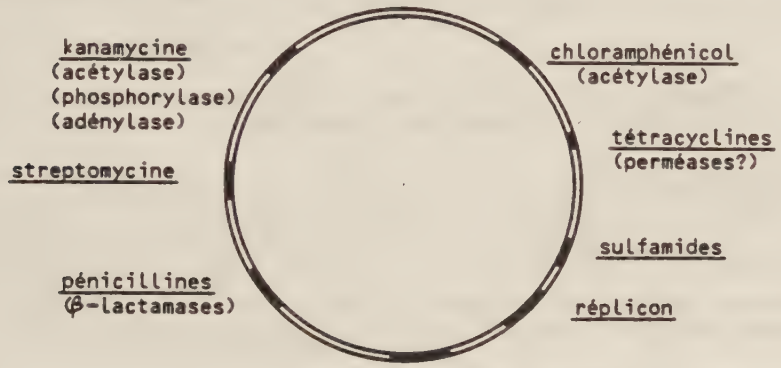
L'information nécessaire est contenue dans un élément extrachromosomique constitué lui aussi d'ADN, il s'agit d'un plasmide.

Les plasmides, d'une manière générale, sont autoréplicables, leur perte est irréversible pour la bactérie, ce ne sont pas des éléments vitaux pour la bactérie, mais ils modifient son comportement en lui conférant une résistance aux antibiotiques par exemple.

Tout plasmide peut être soit autonome, soit intégré à un chromosome. A l'état autonome, le plasmide se réplique seul, indépendamment du chromosome bactérien mais de façon synchrone, tandis qu'intégré à celui-ci, il se réplique en même temps (9).

Le facteur R ou de résistance aux antibiotiques est le seul plasmide qui nous intéresse ici. Le facteur de résistance est un élément complexe comportant plusieurs déterminants génétiques, les caractères de résistance et des gènes de transfert.

Le schéma suivant qui est purement théorique, situe ces éléments sur le plasmide.



TRA : gène assurant le transfert de résistances aux antibiotiques

- RTF : resistance transfert factor -

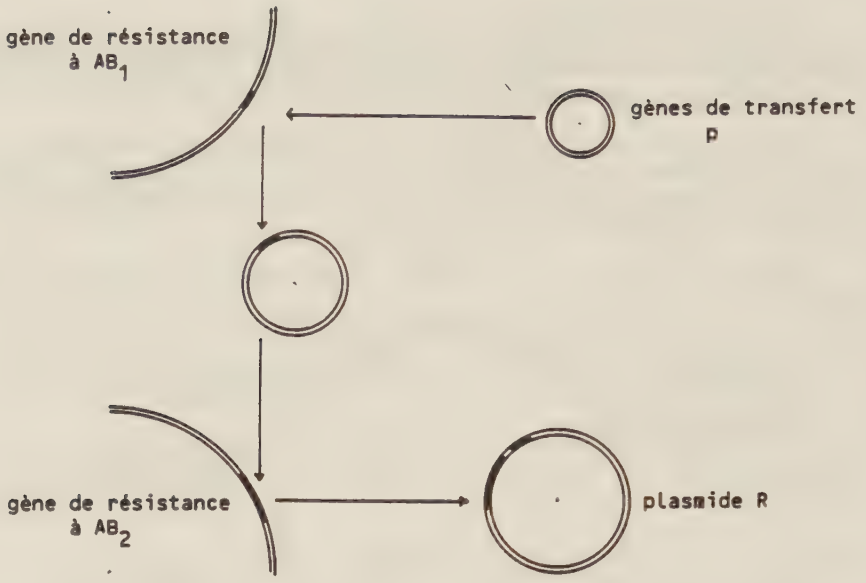
La formation d'un plasmide R commencerait d'abord par l'individualisation dans le cytoplasme bactérien de nucléotides ayant un site d'initiation pour la réplication de l'ADN, auquel viendraient s'adjoindre des gènes facilitant le transfert entre bactéries.

Ce plasmide ainsi individualisé est indépendant de la présence d'antibiotique.

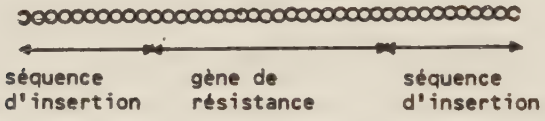
Il pourrait s'intégrer sur le chromosome près d'un gène de résistance, pour ensuite se détacher en emportant ce gène, ou s'adjoindre ces séquences de nucléotides tout en restant cytoplasmique.

Le passage de ce facteur de résistance dans une deuxième bactérie, elle-même résistante par gène chromosomique à un autre antibiotique, peut aboutir à l' adjonction de ce gène au plasmide, qui devient ainsi peu à peu porteur d'une multirésistance (14).

Cette addition successive de gènes est possible par deux mécanismes : la recombinaison classique (nécessité d'un gène de recombinaison et d'une homologie importante entre les ADN qui se soudent), mais surtout par recombinaison ''illégitime'' (15) d'éléments transposables (transposons) contenant un gène de résistance bordé de séquences d'insertion permettant une fixation facile sur un ADN étranger.



- Mécanisme possible de formation d'un plasmide de résistance R aux antibiotiques AB_1 et AB_2 , à partir d'une séquence de nucléotides p -



- Structure schématique d'un transposon -

La résistance plasmidique est fréquemment multiple d'emblée et elle présente un caractère épidémique.

En effet, le transfert de la résistance extrachromosomique de bactérie donnatrice à bactérie réceptrice peut s'effectuer par l'un des trois mécanismes de transfert génétique connu :

- conjugaison :

Notamment chez les bacilles à Gram négatif la transmission entre espèces différentes a lieu par conjugaison de même type que celle provoquée par le facteur sexuel (ou facteur F). (13).

Nous comprenons alors le caractère ''infectieux'' de la résistance. En effet le transfert du facteur R provoque l'apparition de résistances à un ou plusieurs antibiotiques dans la bactérie, même si celle-ci n'a jamais été en contact avec un ou plusieurs de ces antibiotiques.

Ce mode de transfert est le plus fréquent (10^{-2} selon NEUMAN).

- transduction :

Il nécessite pour s'effectuer, la présence d'un bactériophage qui va agir de façon indirecte. Le virus infecte la bactérie et détourne le métabolisme de celle-ci à son profit. A la faveur de l'assemblage des pièces constitutives du virus, il peut y avoir inclusion dans la capside d'un plasmide de résistance hébergé par la bactérie.

Lors d'un nouveau cycle infectieux, ce phage introduira dans la bactérie qu'il atteint l'ADN qu'il porte c'est-à-dire, soit le sien, soit celui de la bactérie, soit le plasmide.

Ce procédé est moins fréquent que le précédent (10^{-3} à 10^{-6} selon NEUMAN), mais constitue un mode important chez les staphylocoques (13).

- transformation :

Il s'agit du transfert d'ADN bactérien à l'état libre à partir d'une cellule lysée. Sa fréquence est très faible (10^{-8} selon NEUMAN).

Il résulte de cette transmission horizontale une véritable ''infection'' de la population bactérienne environnante, d'où le caractère épidémique de ce type de résistance. Au niveau clinique, cela se traduit par un développement de la résistance beaucoup plus brutal que dans le type chromosomique (64).

3 - Les résistances croisées

En règle générale, il existe une résistance croisée vis-à-vis des antibiotiques d'une même famille, mais cette résistance peut n'être que relative, par exemple :

- il existe une résistance croisée pour toutes les pénicillines et céphalosporines, mais pas entre pénicilline G et pénicillines du groupe M vis-à-vis des bactéries pénicillinases productrices.

- pour les oligosaccharides, le problème est plus complexe :

  . des mutants résistants à la streptomycine restent le plus souvent sensibles aux autres antibiotiques du groupe, mais cette règle n'a rien d'absolu,

  . au contraire, des mutants résistants à la kanamycine, à la novobiocine ou à la gentamycine, sont en général résistants à tous les antibiotiques du groupe, mais souvent à un niveau faible pour la streptomycine (63).

- il faut noter enfin une résistance croisée entre :

  . chloramphénicol et thiamphénicol,
  . les différentes tétracyclines,
  . les macrolides, synergistines, lincomycine (à des degrés divers)
  . polymyxine B et colistine.

B) Mécanismes biochimiques de la résistance

Pour qu'un antibiotique agisse sur une bactérie trois conditions au moins sont nécessaires :

- pénétration dans la bactérie,
- existence d'un site bactérien sensible,
- intégrité de l'antibiotique.

Toute altération d'une de ces conditions aboutit à l'apparition d'un état de résistance.

Nous résumerons sous forme d'un tableau récapitulatif les principaux mécanismes biochimiques de la résistance (d'après Julian DAVIES).

MECANISMES	EXEMPLES
Inactivation enzymatique de l'antibiotique par clivage ou modification (rôle des enzymes)	. Résistance plasmidique aux bêta-lactamines et aminosides . Résistance plasmidique et chromosomique au chloramphénicol
Modification du site d'action	. Résistance du staphylocoque à l'érythromycine (ribosomes altérés) . Résistance aux sulfamides chez le pneumocoque (enzyme altérée) . Résistance chromosomique aux aminosides (ribosomes altérés) . Résistance aux rifamycines (ARN polymérase altérée)
Perte de perméabilité à la drogue	. Résistance plasmidique aux tétracyclines et aux sulfamides
Augmentation de production d'un métabolite inhibiteur	. Résistance aux sulfamides
Diminution du besoin en métabolite produit par la réaction inhibée	. Résistance aux sulfamides

II - INTERPRETATION DES GRAPHIQUES

Dans cette deuxième partie nous analyserons l'évolution de l'activité de chaque anti-infectieux testé vis-à-vis des trois germes étudiés, après avoir envisagé la relation entre le déterminisme génétique et le mécanisme biochimique des résistances développées à son égard.

A) Bêta-lactamines

Pénicilline G (p.36)
Cloxacilline (p.37)
Ampicilline (p.38)

Tous les antibiotiques de cette famille comportent un cycle bêta-lactame et ont le même mécanisme d'action : ils bloquent l'étape terminale de la synthèse de la paroi bactérienne.

1 - Résistance

Les gènes chromosomiques et plasmidiques de résistance conduisent à la synthèse d'enzymes, les bêta-lactamases, qui selon l'antibiotique inactivé sont classés en pénicillinases et céphalosporinases (64).

L'ouverture du cycle bêta-lactame est le mécanisme commun d'inactivation de l'antibiotique (11).

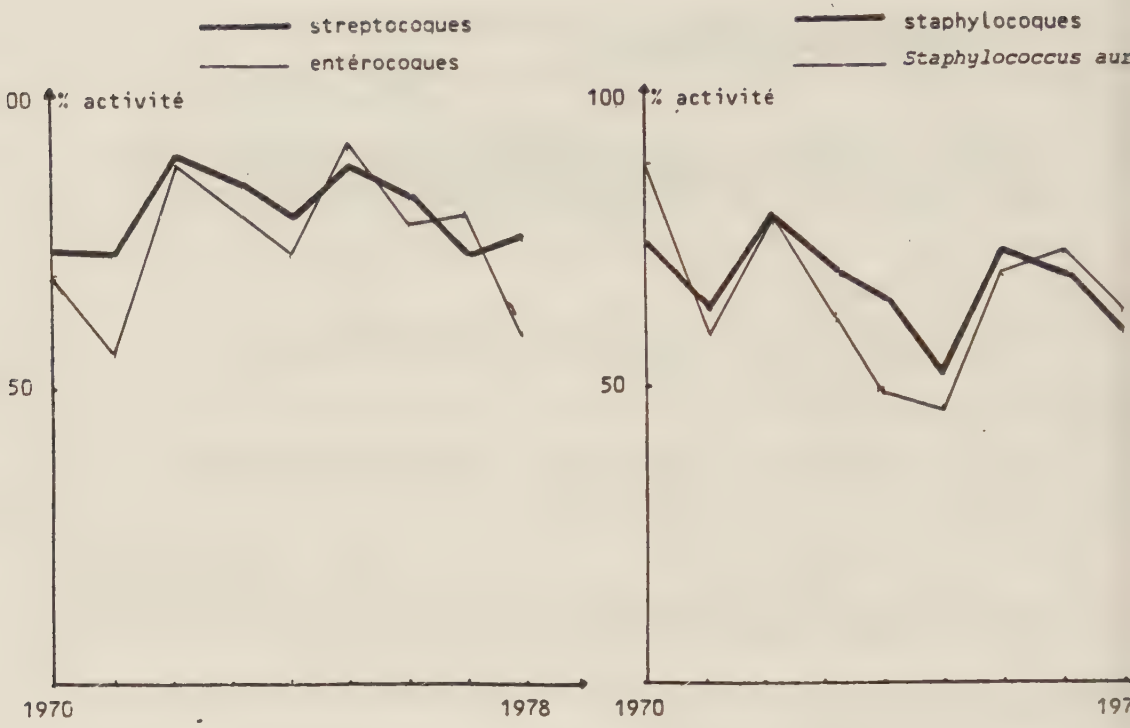
Les bêta-lactamases ont été mises en évidence aussi bien chez des bactéries à Gram positif (*Staphylococcus*) que chez des bactéries à Gram négatif (entérobactéries, *Pseudomonas*) (60).

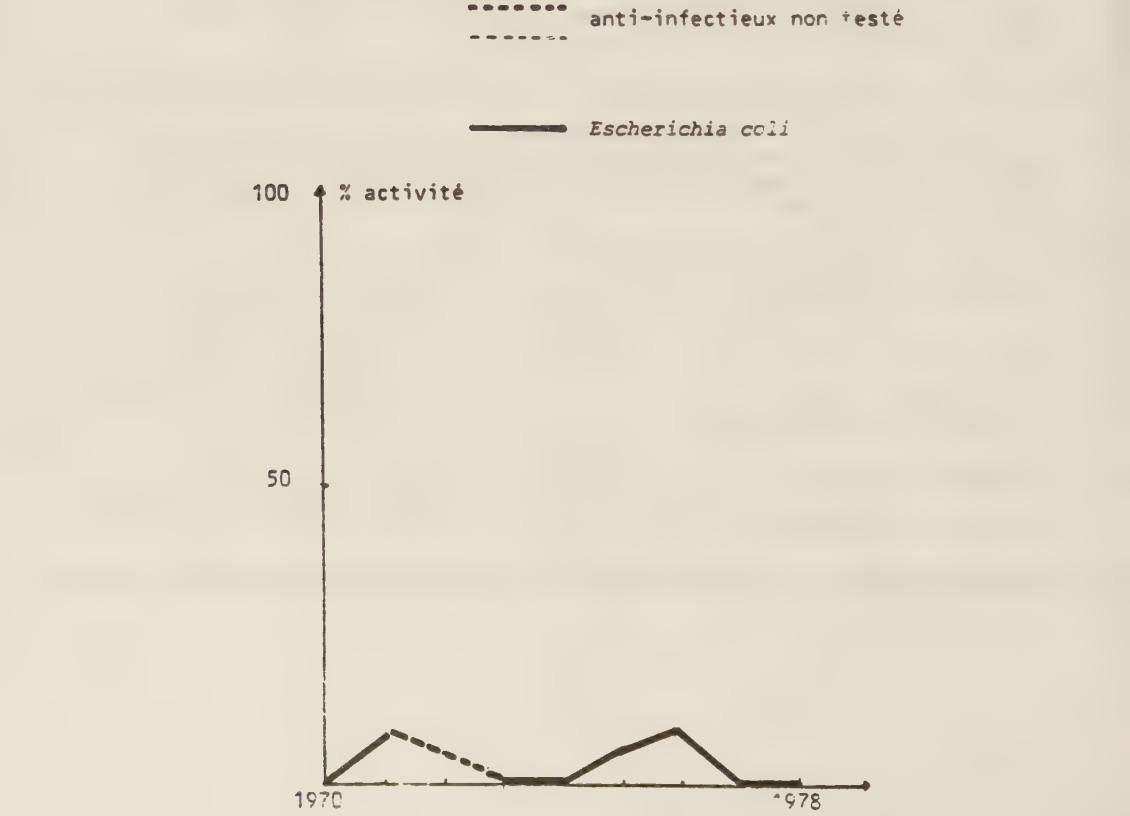
Certains staphylocoques produisent naturellement une pénicillinase.

Si au lieu d'une infection, il existe une association microbienne de deux bactéries (staphylocoque et streptocoque), le streptocoque sera protégé contre l'action éventuelle d'une pénicilline G, grâce à la pénicillinase du staphylocoque.

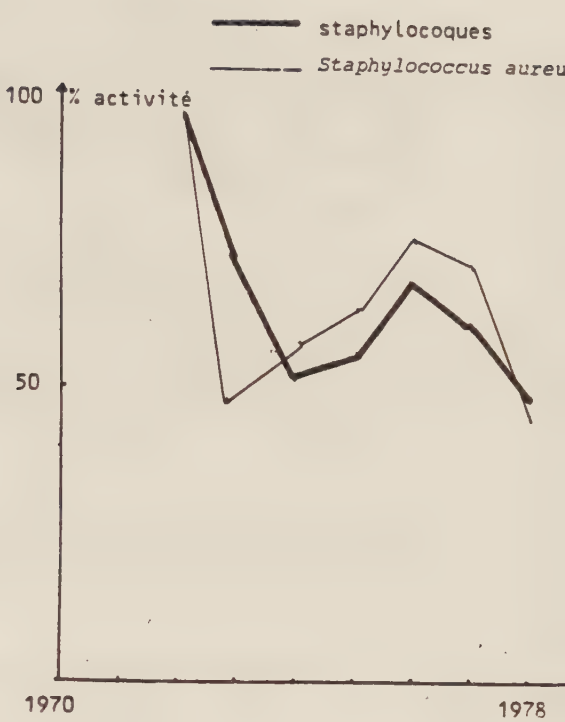
2 - Evolution

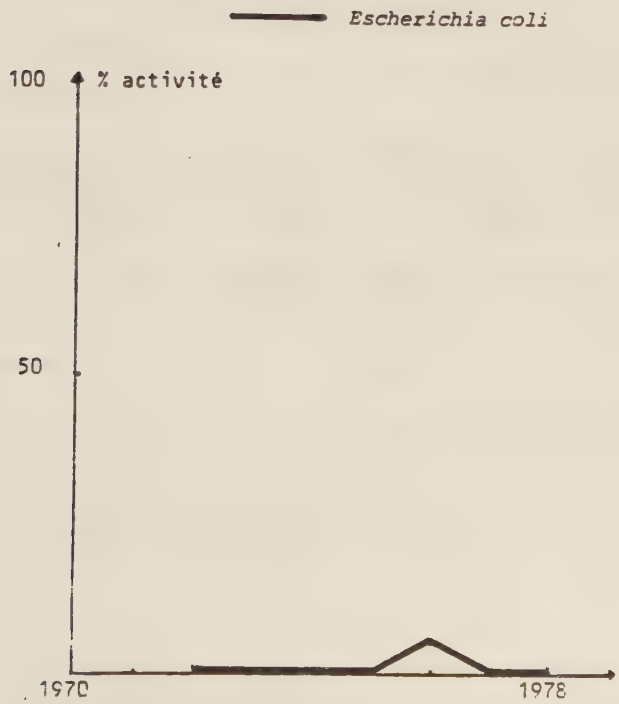
C.M.I. µg/ml	pénicilline G	cloxacilline	ampicilline
Staphylococcus aureus	0,02	0,1 - 0,2	<0,5
Staphylococcus aureus (sécréteur de pénicillinase)	-	0,15 - 0,20	-
Streptococcus pyogenes	0,001	0,1	<0,5
Streptococcus faecalis	2,5	25	2
Escherichia coli	50	-	5


streptocoques
entérocoques
staphylocoques
Staphylococcus aur
00
% activité
50
1970
1978
100
% activité
50
1970
197

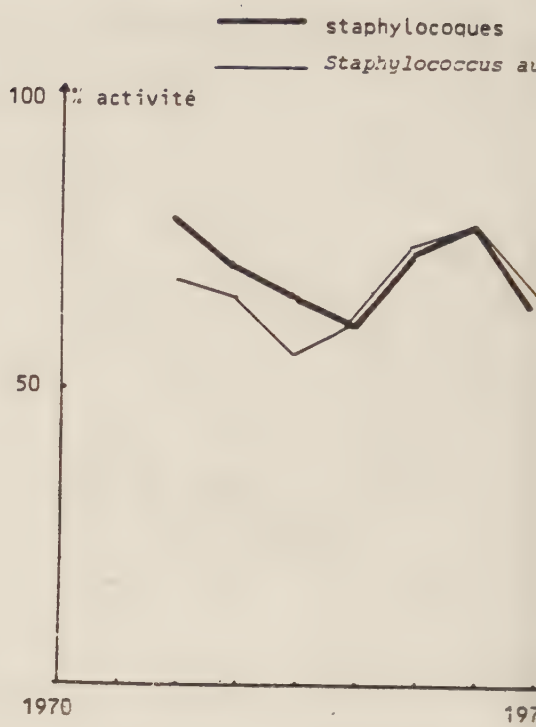

anti-infectieux non testé
Escherichia coli
100
% activité
50
1970
1978

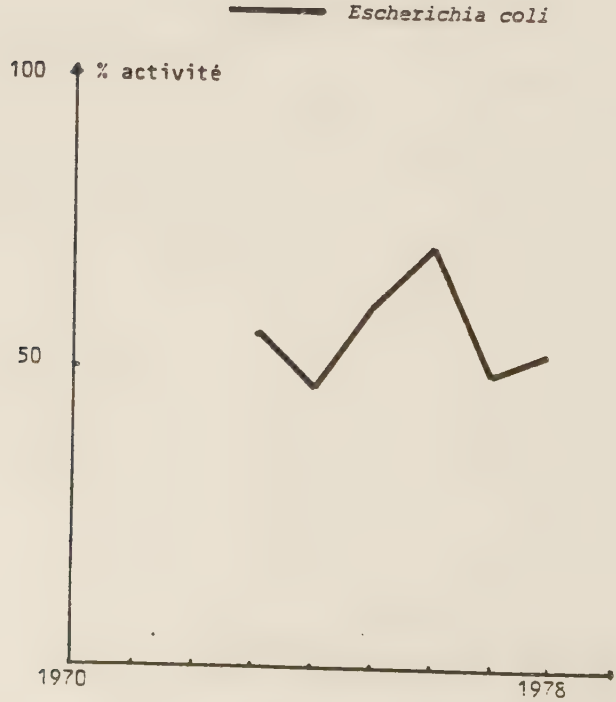
streptocoques
entérocoques
% activité
1970
1978


staphylocoques
Staphylococcus aureu
100
% activité
50
1970
1978


Escherichia coli
100
% activité
50
1970
1978

streptocoques
entérocoques
100
% activité
50
1970
1978


staphylocoques
Staphylococcus au
100
% activité
50
1970


Escherichia coli
100
% activité
50
1970
1978

- Streptocoques :

En ce qui concerne l'ampicilline et la pénicilline, le pourcentage d'activité est bon malgré une baisse lente et régulière vraisemblablement en relation avec l'établissement d'antibiorésistances. La cloxacilline dont le spectre est plus étroit, est moins active sur les entérocoques.

- Staphylocoques :

La baisse d'activité est importante et seules l'ampicilline et la pénicilline sont encore efficaces. En effet, la cloxacilline n'a qu'un pourcentage d'activité de 50% alors qu'elle est insensible aux pénicillinases bactériennes et devrait donc être très efficace sur les staphylocoques. Une explication peut être fournie par l'utilisation intensive de cet antibiotique dans les traitements hors lactation. L'emploi fréquent des bêta-lactamines dans le traitement des mammites à Gram positif entraîne une diminution régulière de leur activité par l'établissement de résistances.

- *Escherichia coli* :

Le peu d'activité des bêta-lactamines sur les bacilles à Gram négatif est bien mise en évidence, l'ampicilline qui a un spectre plus large, est la plus active (60%).

B) Aminosides

Streptomycine (p. 41)
Kanamycine (p. 42)
Néomycine (p. 43)
Gentamycine (p. 44)

Ces antibiotiques perturbent la synthèse protéique par action sur la sous-unité 30 S des ribosomes. Il en résulte l'insertion aberrante d'acides aminés, qui conduit à la synthèse de protéines inactives et à l'arrêt de la croissance bactérienne.

1 - Résistance

- chromosomique :

Elle a été bien étudiée pour la streptomycine. C'est une mutation qui a pour conséquence une modification de la structure du ribosome, empêchant la fixation de l'antibiotique. Elle est très spécifique de la streptomycine et permet la résistance à des concentrations élevées (1 mg/ml).

Un mode de résistance proche existe pour la kanamycine et la néomycine, mais la résistance chromosomique à ces derniers antibiotiques est rare et a été peu étudiée.

- plasmidique :

Nous connaissons actuellement trois types d'enzymes codés par les plasmides qui, par des mécanismes différents, peuvent inactiver les aminosides :

. par acétylation des radicaux amine,
. par adénylation des radicaux hydroxyle,
. par phosphorylation des radicaux hydroxyle.

Les principaux enzymes d'inactivation connus sont :

. 5 acétyl-transférases :
  kanamycine- acétyl-transférases, AAC (6') I et II
  néomycine-gentamycine-acétyl-transférase, AAC (2')
  gentamycine-acétyl-transférase, AAC (3) I
  kanamycine-gentamycine-acétyl-transférase, AAC (3) II

. 2 adényl-transférases :
  streptomycine-spectinomycine-adényl-transférase, AAD (3'')
  kanamycine-gentamycine-nucléotidyl-transférase, ANT (2'')

. 3 phospho-transférases :
  streptomycine-phospho-transférase, APH (3'')
  kanamycine-néomycine-phospho-transférases, APH (3') I et II.

La présence ou l'absence des radicaux cibles sur la molécule antibiotique explique la grande spécificité de ces enzymes, mais aussi l'existence de résistances croisées.

L'inactivation par phosphorylation est le mécanisme le plus fréquent pour les streptomycine, néomycine, kanamycine; des plasmides codant pour des phosphorylases ont été mis en évidence chez une grande variété de bactéries. Les autres enzymes sont moins fréquemment rencontrés (18,64,66).

Pour la streptomycine qui peut être adénylée ou phosphorylée, et pour la kanamycine qui peut être acétylée, adénylée ou phosphorylée, la phosphorylation permet généralement la résistance à une concentration plus élevée d'antibiotique (32).

2 - Evolution

	streptomycine	kanamycine	néomycine	gentamycine
C.M.I. µg/ml	0,5 - 5	0,5 - 5	2 - 10	0,1 - 5

- Streptocoques :

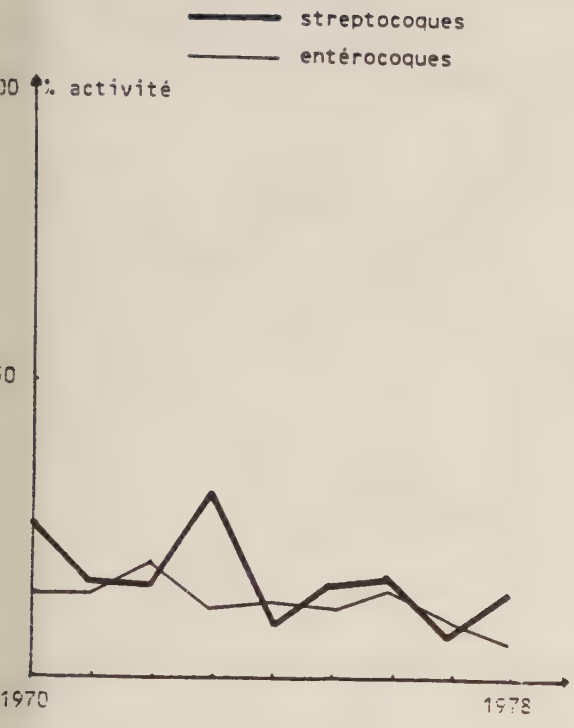
A part la gentamycine pour laquelle le pourcentage d'activité est juste moyen, les autres antibiotiques de cette famille ont une faible activité. Cette famille a de fait un spectre d'action qui intéresse plutôt les Gram négatif et quelques Gram positif, donc ceci semble tout à fait logique. Le spectre plus large de la gentamycine explique sa meilleure activité. De plus cet antibiotique est d'un emploi peu courant dans les traitements des mammites en raison de son coût élevé; donc la pression de sélection exercée sur les germes est assez faible.

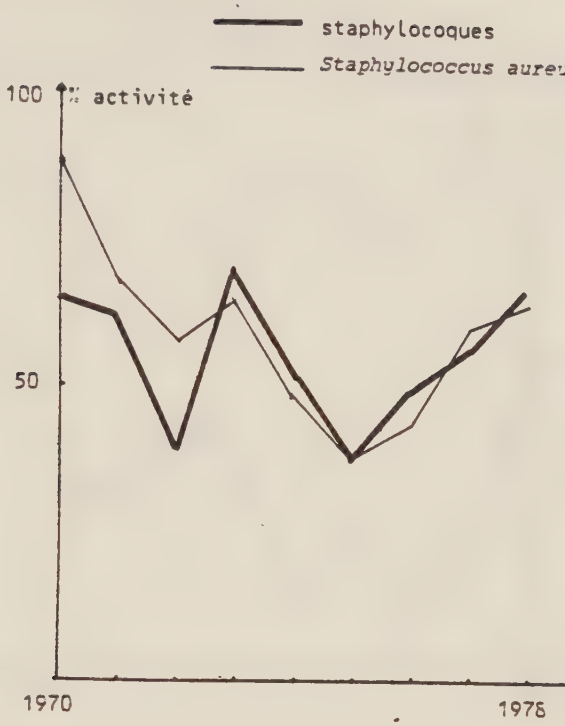
- Staphylocoques :

Malgré une baisse de l'activité de la kanamycine et de la néomycine, l'efficacité reste bonne pour tous les antibiotiques de cette famille, surtout pour la gentamycine, ce qui s'explique par le fait que peu de souches de staphylocoques y sont résistantes (49). Le plus faible pourcentage d'activité de la streptomycine s'explique d'une part par la moindre étendue de son spectre d'action et d'autre part par le type de résistance, d'emblée très forte, en un seul échelon, qu'elle développe à son contact.

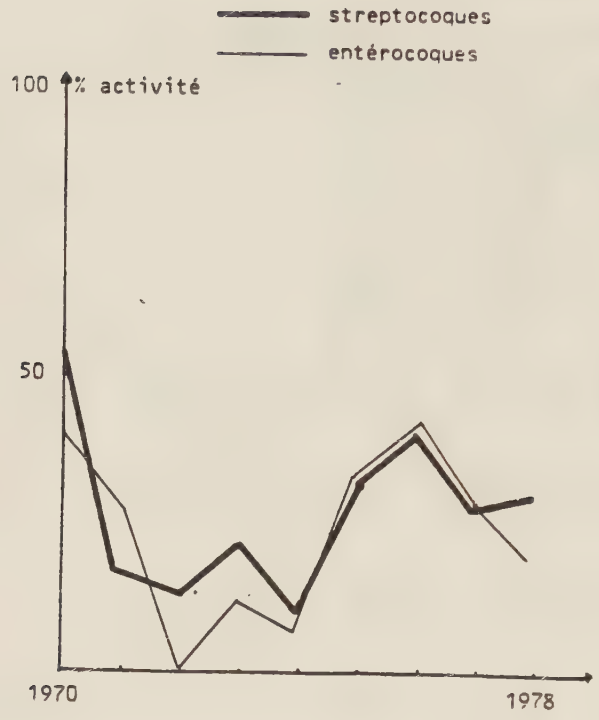
- *Escherichia coli* :

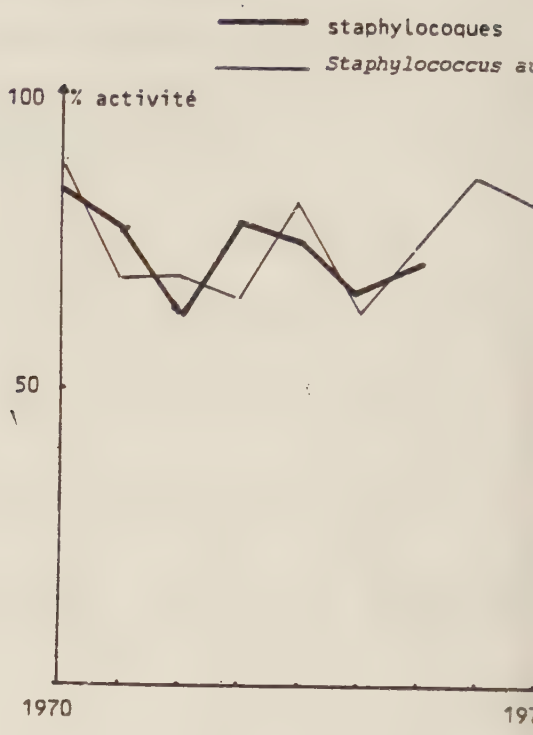
Bien que le spectre d'action des aminosides soit sensé atteindre les bacilles à Gram négatif, l'observation montre une activité assez moyenne sur *Escherichia coli*.


streptocoques
entérocoques
% activité
1970
1978

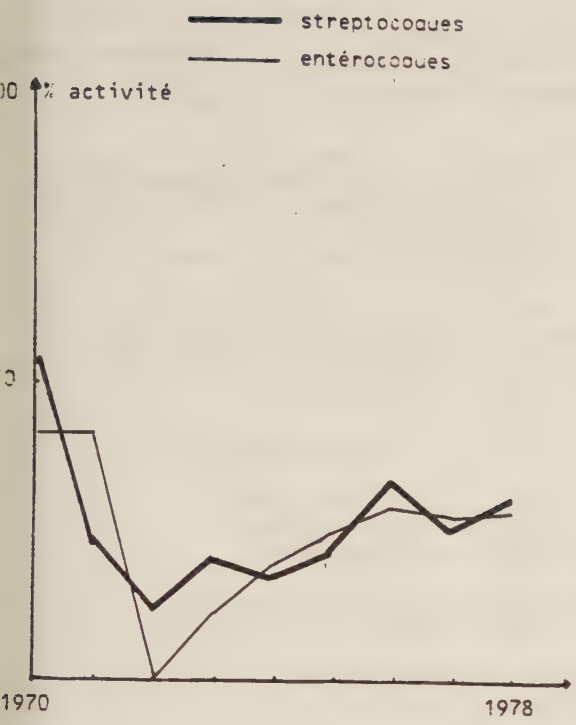

staphylocoques
Staphylococcus aureu
100
% activité
50
1970
1978

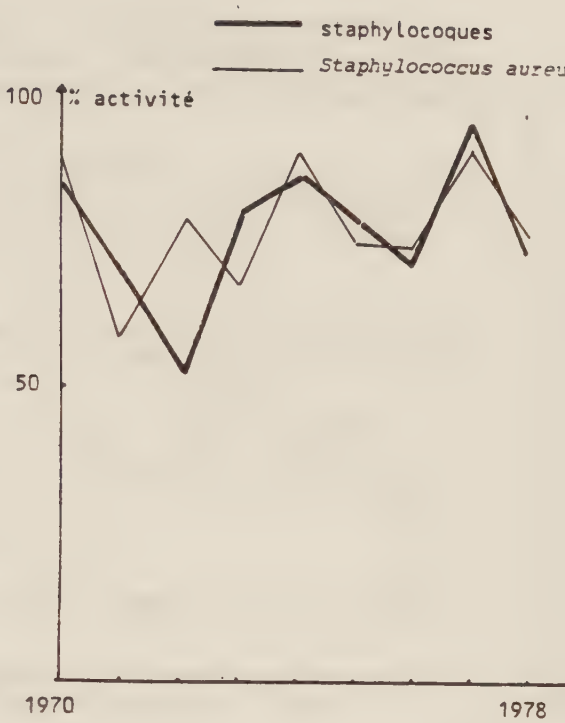
Escherichia coli
100
% activité
50
1970
1978


streptocoques
entérocoques
100
% activité
50
1970
1978

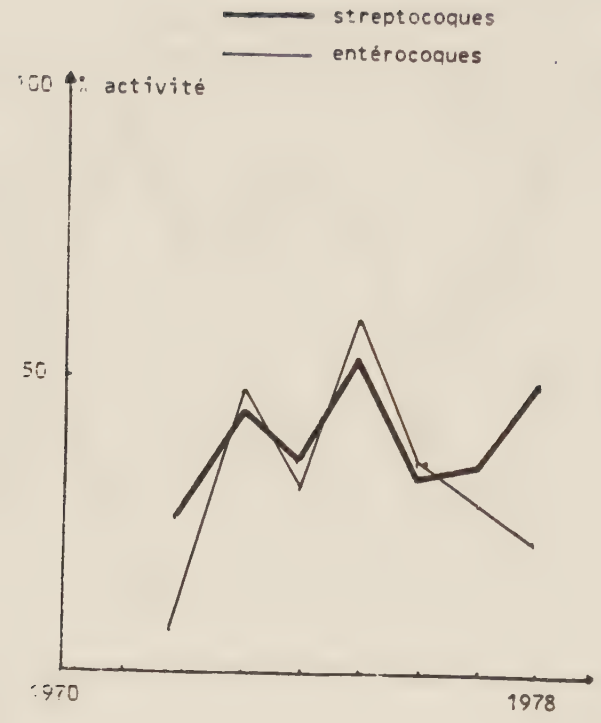

staphylocoques
Staphylococcus au
100
% activité
50
1970

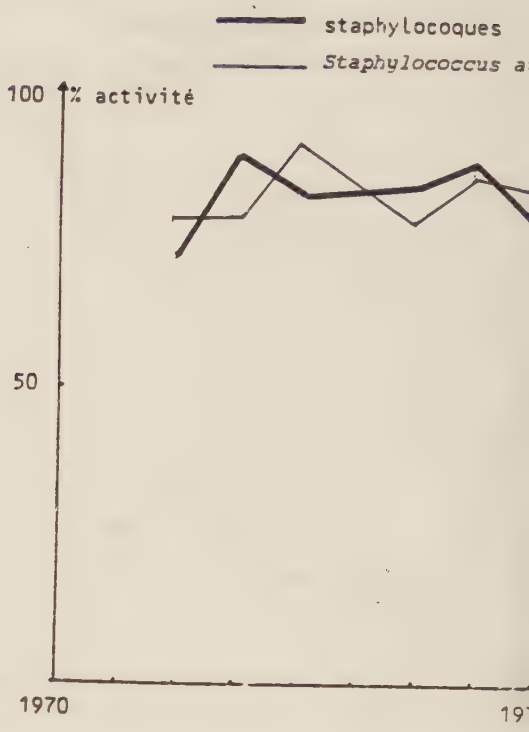
Escherichia coli
100
% activité
50
1970
1978

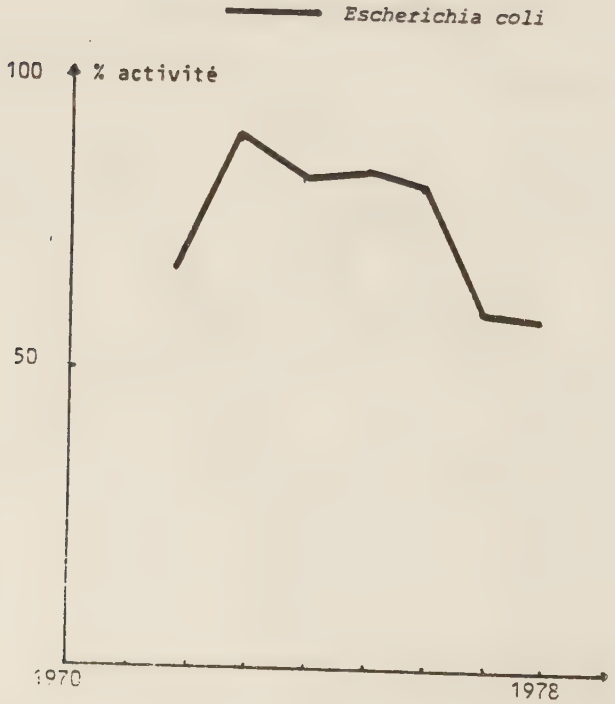

streptocoques
entérocoques
% activité
1970
1978


staphylocoques
Staphylococcus aureu
100
% activité
50
1970
1978

Escherichia coli
100
% activité
50
1970
1978


streptocoques
entérocoques
100
% activité
50
1970
1978


staphylocoques
Staphylococcus a
100
% activité
50
1970


Escherichia coli
100
% activité
50
1970
1978

La faible activité de la streptomycine peut s'expliquer par le type de résistance qu'elle développe, forte d'emblée, qui se traduit par des diminutions importantes et brutales de son pourcentage d'activité (graphiques en ''dents de scie'').

En ce qui concerne la néomycine et la kanamycine, dont le spectre d'action et le type de résistance sont très similaires, la différence des résultats obtenus, entre ces deux antibiotiques, peut provenir d'une utilisation plus courante de la néomycine en médecine vétérinaire qui entraîne une augmentation de la résistance.

Pour la gentamycine dont le spectre est plus étendu et qui développe peu de résistance à son égard, il semble que son emploi assez fréquent dans les affections à Gram négatif, ait entraîné récemment une diminution sensible de son pourcentage d'activité (60%).

C) Tétracyclines

Tétracycline (p. 46)
Oxytétracycline (p. 47)
Chlortétracycline (p. 48)

Le mode d'action des tétracyclines semble complexe, plusieurs niveaux d'intervention peuvent être retenus :

- inhibition, par chélation des ions Mg^{++}, des systèmes enzymatiques responsables des réactions d'oxydo-réduction libératrices d'énergie.

- influence sur la synthèse protéique : la fixation des tétracyclines sur les ribosomes, préférentiellement sur la sous-unité 30 S, inhibe la fixation du complexe ARN_t-acide aminé.

1 - Résistance

Le mécanisme de résistance des bactéries aux composés de cette famille est mal connu.

- chromosomique :

Des mutations conférant la résistance à des concentrations différentes de tétracycline avec éventuellement résistance croisée au chloramphénicol ont été identifiées. Il s'agit sans doute de mutants pléiotropes de membrane affectés dans la perméation (32).

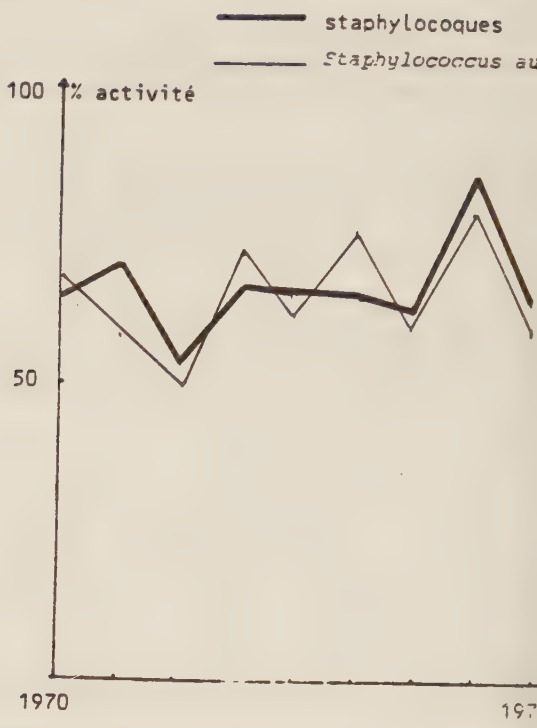
- plasmidique :

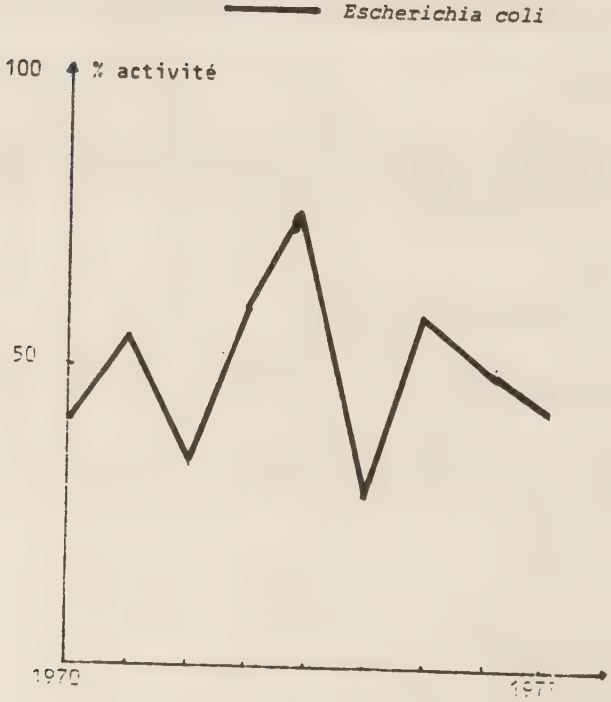
Jusqu'à maintenant aucun enzyme de modification ou d'inactivation de l'antibiotique n'a pu être mis en évidence.

Le mécanisme de résistance le plus probable semble lié à une modification de la pénétration de l'antibiotique dans la bactérie.

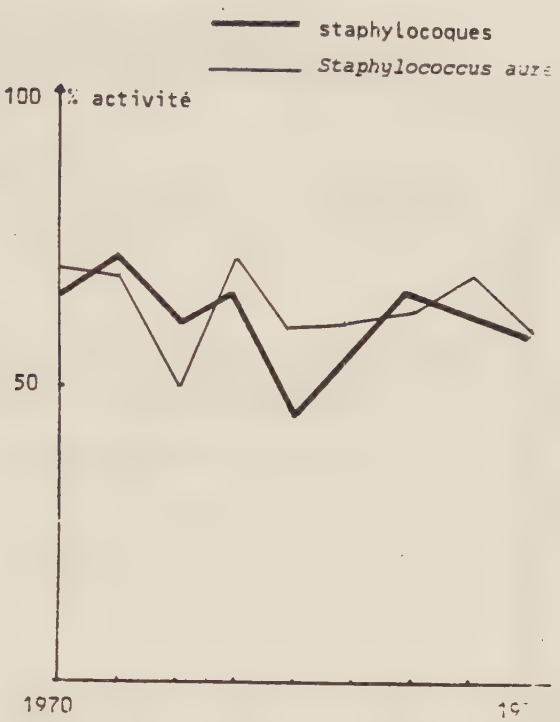
Chez *Escherichia coli*, les plasmides interviendraient dans la synthèse d'un inhibiteur du transport de l'antibiotique à travers la membrane bactérienne (32).

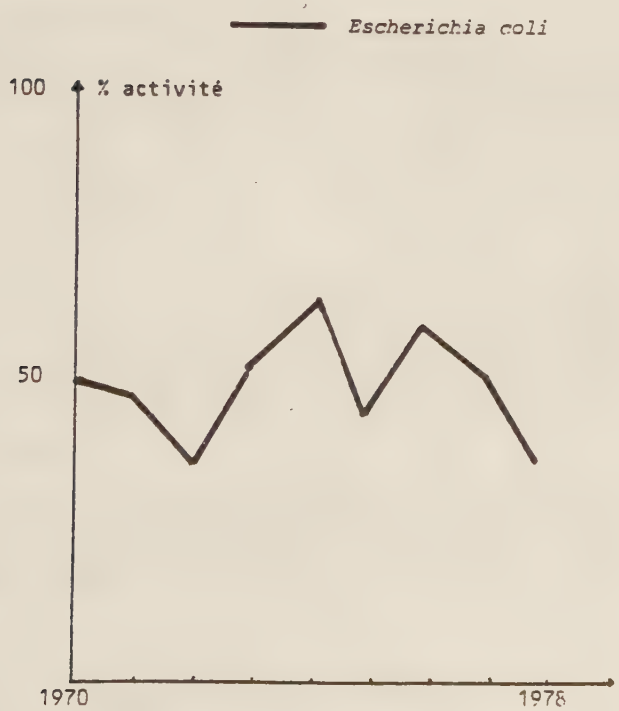
streptocoques
entérocoques
100
% activité
50
1970
1978

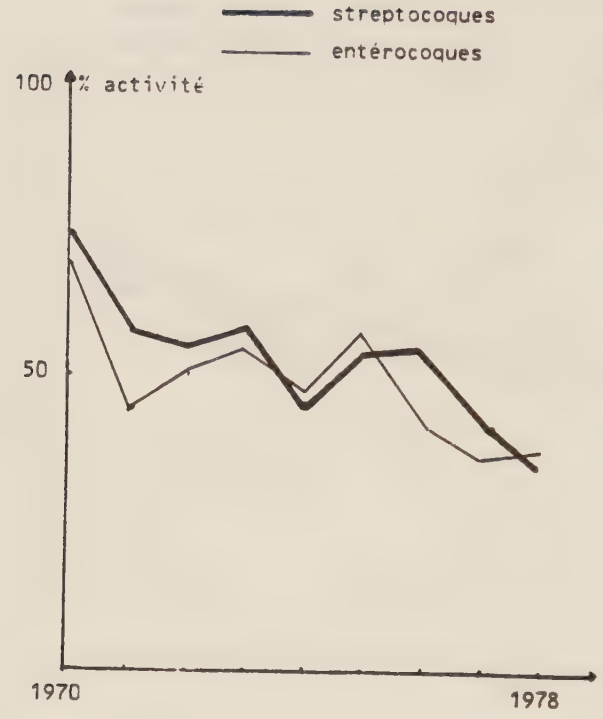

staphylocoques
Staphylococcus au
100
% activité
50
1970

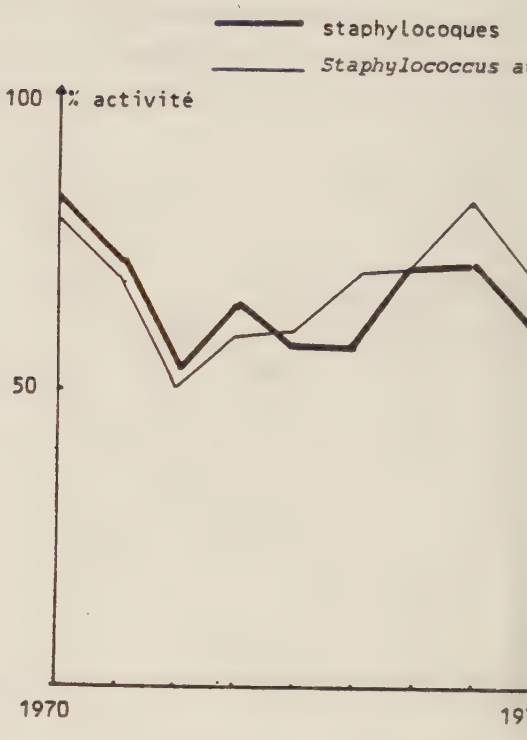

Escherichia coli
100
% activité
50
1970

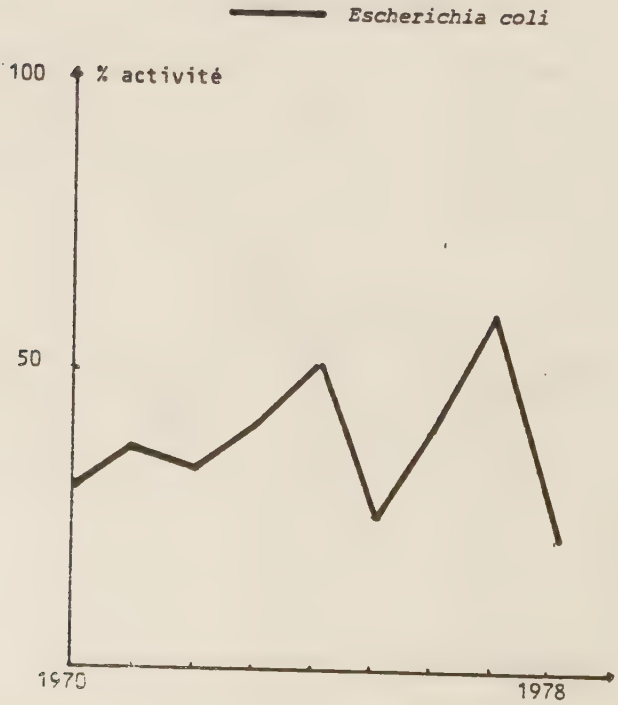
streptocoques
entérocoques
100
% activité
50
1970
1978


staphylocoques
Staphylococcus aure
100
% activité
50
1970


Escherichia coli
100
% activité
50
1970
1978


streptocoques
entérocoques
100
% activité
50
1970
1978


staphylocoques
Staphylococcus a
100
% activité
50
1970
19


Escherichia coli
100
% activité
50
1970
1978

Des plasmides de résistance à la tétracycline ont aussi été mis en évidence chez *Staphylococcus auréus*. Chez les bactéries à Gram positif la résistance est de type inductible(32).

2 - Evolution

La concentration minimale inhibitrice (CMI) varie de 0,1 à 0,5 µg/ml.

Leurs spectres d'action très proches expliquent le peu de variation d'activité qui existe entre elles.

- Streptocoques :

Le recours fréquent à ces antibiotiques, à la fois par voie générale et par voie galactophore, dans de nombreuses préparations du commerce entraîne l'apparition lente de résistances, en plusieurs échelons.

Ce phénomène est très sensible chez les entérocoques notamment.

- Staphylocoques :

Le pourcentage d'activité reste stationnaire et assez bon pour la tétracycline et l'oxytétracycline, mais diminue faiblement pour la chlortétracycline. Cet antibiotique étant un peu trop usité, et par la même, sans grande efficacité.

- *Escherichia coli* :

Leur pourcentage d'activité est bien inférieur à celui que nous pouvons en attendre, sur des bacilles à Gram négatif, et il est sujet à de grandes variations selon les années. Ce qui montre de grandes variations de sensibilité des souches de colibacilles à leur égard. Ceci corrobore le résultat d'un usage trop intensif de telles substances.

D) Chloramphénicol (p. 50)

Il agit au niveau de la synthèse protéique par un mécanisme encore imparfaitement connu. Après fixation au niveau de la sous-unité 50 S du ribosome, il inhibe l'allongement des chaînes peptidiques en cours de biosynthèse et la libération des chaînes terminées.

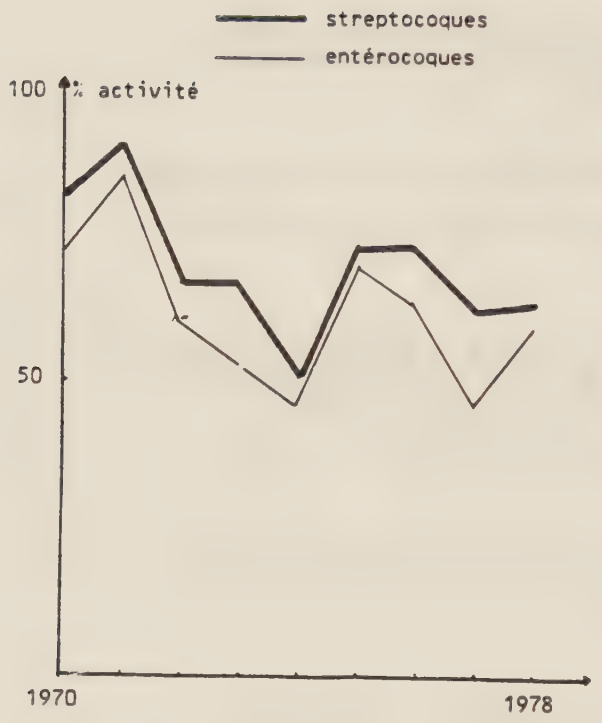
1 - Résistance

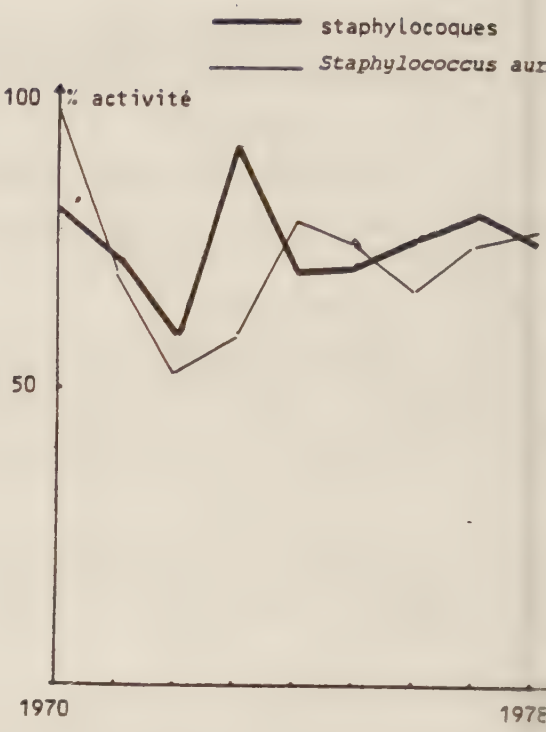
- chromosomique :

Trois gènes sont actuellement connus chez *Escherichia coli*, dont deux localisés. Ces mutants montrent une résistance croisée chloramphénicol tétracyclines, mais à des concentrations différentes d'antibiotiques selon le type de mutant. Il semble s'agir là de mutations de membrane à effet pléiotrope affectant la pénétration des drogues dans la cellule bactérienne (mutations de perméation) (32).

- plasmidique :

Le principal mécanisme de résistance semble être ici la synthèse de chloramphénicol-acétyl-transférases (CAT) d'information plasmidique, actives sur les radicaux hydroxyle de la molécule. Ces enzymes conduisent à la formation successive de deux dérivés inactifs (64).


streptocoques
entérocoques
100
% activité
50
1970
1978


staphylocoques
Staphylococcus aur
100
% activité
50
1970
1978

Escherichia coli
100
% activité
50
1970
1978

Une grande variété de chloramphénicol-acétyl-transférases a été identifiée chez les bactéries à Gram négatif et chez les staphylocoques.

Une inactivation partielle du chloramphénicol peut aussi être provoquée par l'action de réductases sur le radical NO_2, mais l'importance pratique de ce mode de résistance semble faible (32).

2 - Evolution

La CMI est de 1 à 10 µg/ml pour la majorité des germes sensibles.

- Streptocoques :

L'efficacité du chloramphénicol vis-à-vis des streptocoques demeure bonne mais tend à diminuer faiblement, sans doute en raison de l'établissement d'une résistance de type pénicillinique.

- Staphylocoques :

Le pourcentage d'activité du chloramphénicol reste stationnaire et élevé.

- *Escherichia coli* :

Les variations annuelles du pourcentage d'activité sont importantes, comme c'est le cas pour de nombreux antibiotiques vis-à-vis du colibacille, ceci peut être attribué à l'existence de nombreux sérotypes dont la sensibilité est variable et à l'aptitude du chloramphénicol à induire des résistances.

Sur l'intervalle considéré le pourcentage d'activité enregistre une baisse sensible, mais l'antibiotique reste efficace sur 70% des colibacilles.

E) Macrolides et apparentés

Erythromycine (p. 53)
Spiramycine (p. 54)
Virgymycine (p. 55)

Ils agissent principalement sur les bactéries à Gram positif. Le mode d'action est identique pour tous ces antibiotiques; ils se fixent au niveau de la sous-unité 50 S du ribosome et inhibent la translocation de l'ARN_t. La synthèse protéique est alors arrêtée.

1 - Résistance

- chromosomique :

La mieux connue est la résistance à l'érythromycine due à une altération des ribosomes qui empêche la fixation de l'antibiotique.

- plasmidique :

La résistance à cette famille d'antibiotiques a été bien étudiée chez *Staphylococcus aureus* où elle semble due à la synthèse codée par le plasmide d'une méthylase qui empêche la fixation de l'antibiotique sur l'ARN ribosomal.

Il existe en réalité deux types de résistance :

. une résistance inductible par des concentration subinhibitrices d'érythromycine, ce procédé induit une résistance à l'érythromycine et aux autres macrolides. L'antibiogramme montre ces souches résistantes à l'érythromycine mais sensibles aux autres produits en l'absence d'érythromycine. Ceci prouve que la bactérie héberge un plasmide de résistance aux macrolides qui ne s'exprime qu'en présence d'érythromycine qui jouerait alors un rôle de dérépresseur, donc cet antibiotique induit la résistance en induisant l'expression du plasmide (2).

. une résistance constitutive pour laquelle les souches sont d'emblée résistantes à tous ces produits.

Il a été démontré récemment que cette résistance plasmidique, constitutive ou inductible, résulte d'une modification du ribosome bactérien, l'antibiotique ne peut plus alors se fixer sur son site d'action.

Cette altération résulte de l'action d'un enzyme qui catalyse la méthylation des sites spécifiques de l'ARN ribosomal de la fraction 50 S du ribosome. Les ribosomes posédant un ARN non méthylé fixent les macrolides, ils ne les fixent plus si l'ARN est méthylé.

C'est jusqu'ici le seul exemple de résistance plasmidique due à une modification du site d'action de l'antibiotique.

2 - Evolution

C.M.I. µg/ml	érythromycine	spiramycine	virgymycine
	0,01 - 5	0,5 - 3	0,1 - 0,6

- Streptocoques :

Le pourcentage d'activité est satisfaisant et en hausse tout au moins pour l'érythromycine et la spiramycine. Notons que ce pourcentage est beaucoup plus faible vis-à-vis des entérocoques, ce qui apparaît nettement sur les graphiques.

Le graphique de l'érythromycine montre d'importantes variations annuelles des pourcentages d'activité, là encore, nous pouvons les attribuer à des modifications brutales de la sensibilité des germes.

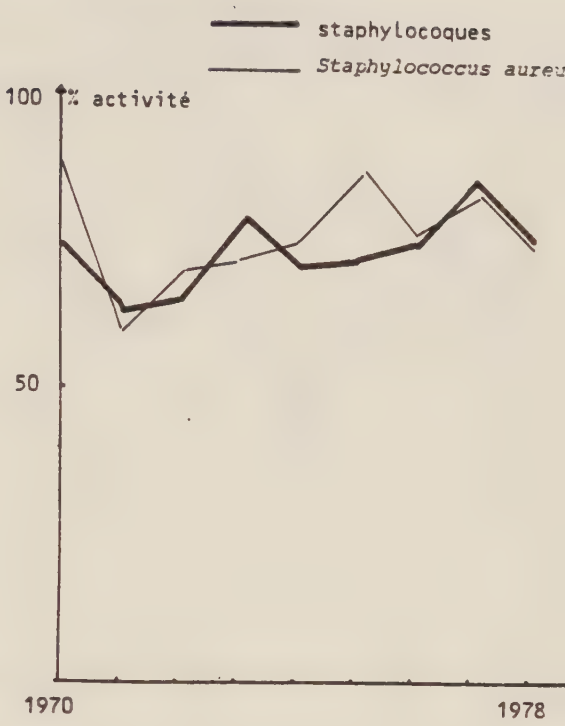
- Staphylocoques :

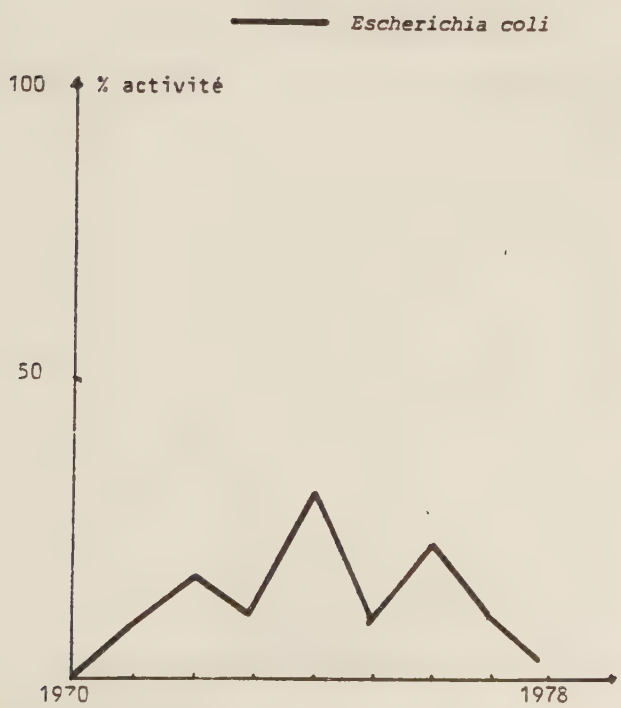
Pour l'érythromycine et la spiramycine le pourcentage d'activité est bon, mais pour la virgymycine il chute notablement. Or la virgymycine devrait être un antibiotique de choix grâce à son action préférentielle sur les staphylocoques, par sa faible utilisation en médecine vétérinaire et par le peu de résistance qu'elle engendre. Nous pensons que si l'acquisition de résistances à la virgymycine est assez rare, la transmission est durable, ce qui expliquerait la diminution régulière et notable du pourcentage d'activité vis-à-vis des staphylocoques.

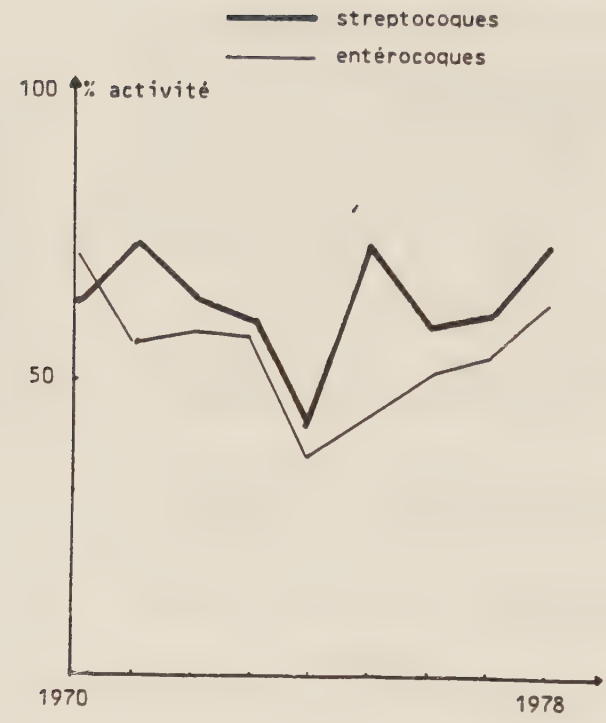
- *Escherichia coli* :

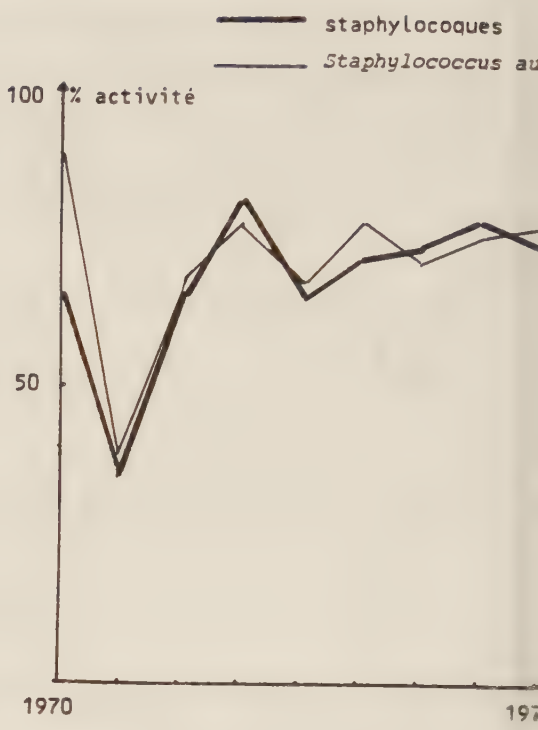
Le peu d'activité des macrolides sur les bacilles à Gram négatif explique la faiblesse des résultats obtenus.

streptocoques
entérocoques
100
% activité
50
1970
1978

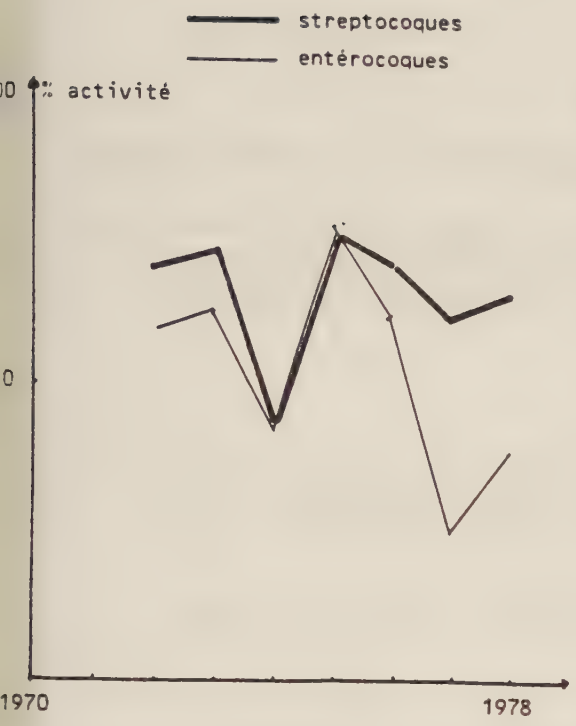

staphylocoques
Staphylococcus aureu
100
% activité
50
1970
1978

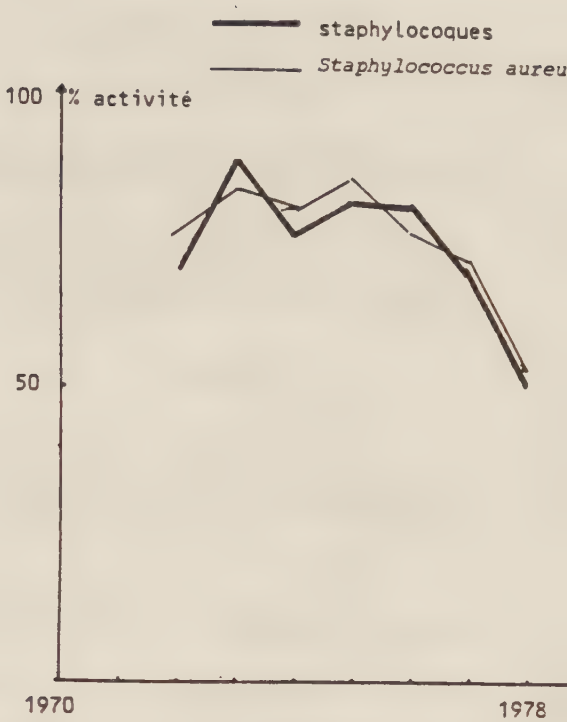

Escherichia coli
100
% activité
50
1970
1978

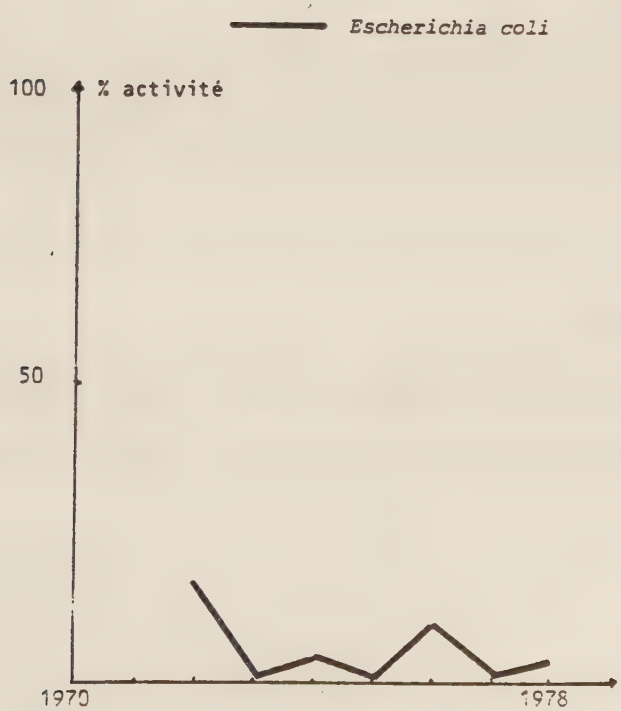

streptocoques
entérocoques
100
% activité
50
1970
1978


staphylocoques
Staphylococcus au
100
% activité
50
1970

Escherichia coli
100
% activité
50
1970
1978


streptocoques
entérocoques
% activité
0
1970
1978


staphylocoques
Staphylococcus aureu
100
% activité
50
1970
1978


Escherichia coli
100
% activité
50
1970
1978

F) Rifamycines - Novobiocine

Rifamycines (p. 57)
Novobiocine (p. 58)

Les rifamycines agissent sur la synthèse de l' ARN messager en bloquant l'action des ARN-polymérases bactériennes.

La novobiocine agit en complexant le magnésium, ce qui perturbe divers enzymes et les fonctions cellulaires pour lesquelles ce cation est nécessaire. La novobiocine entraîne une diminution importante de la synthèse de l'ADN et des ARN, puis secondairement, de la synthèse des protéines et de la paroi.

1 - Résistance

- rifamycines :

Jusqu'à maintenant le seul type de résistance connu est d'origine chromosomique, il résulte d'une modification de la sous-unité bêta de l'ARN-polymérase qui devient insensible aux rifamycines (32).

- novobiocine :

La résistance est de type streptomycinique, donc forte et rapide, en un seul échelon.

2 - Evolution

C.M.I. µg/ml	rifamycines	novobiocine
staphylocoques	0,05 - 0,1	0,1 - 1,2
bacilles à Gram négatif	5 - 50	5 - 10

- rifamycines :

Son pourcentage d'activité vis-à-vis des streptocoques et surtout des staphylocoques est assez élevé, ce qui vérifie bien son tropisme pour les coques Gram positif. De plus son activité est stationnaire, en effet il n'existe pas ou peu de résistance croisée à son égard, et son introduction dans les préparations à usage intramammaire est récent (Rifamastène ND).

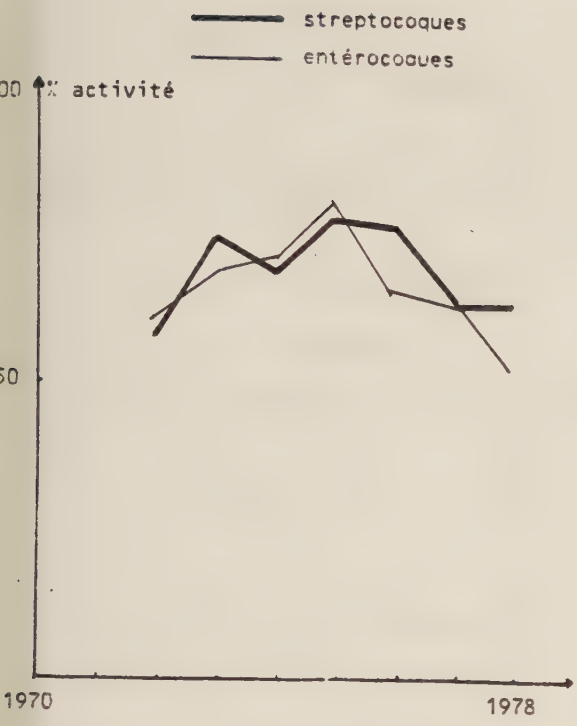
Escherichia coli est résistante.

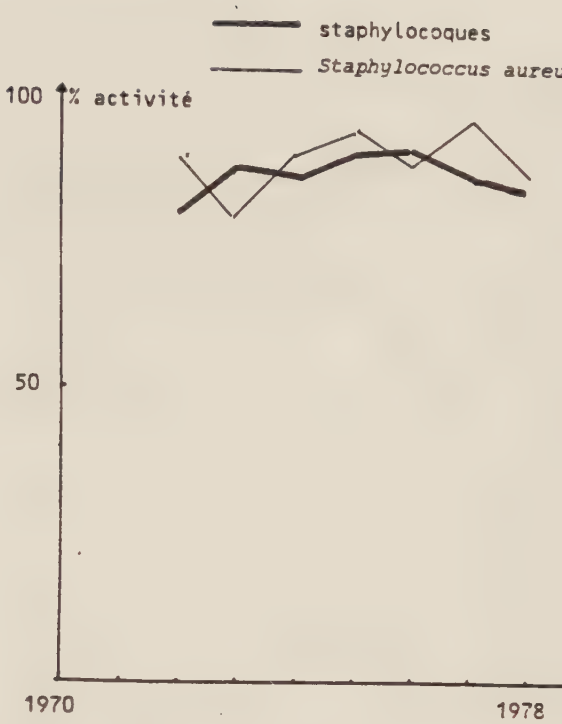
Notons également que les rifamycines sont très actives sur les mycobactéries.

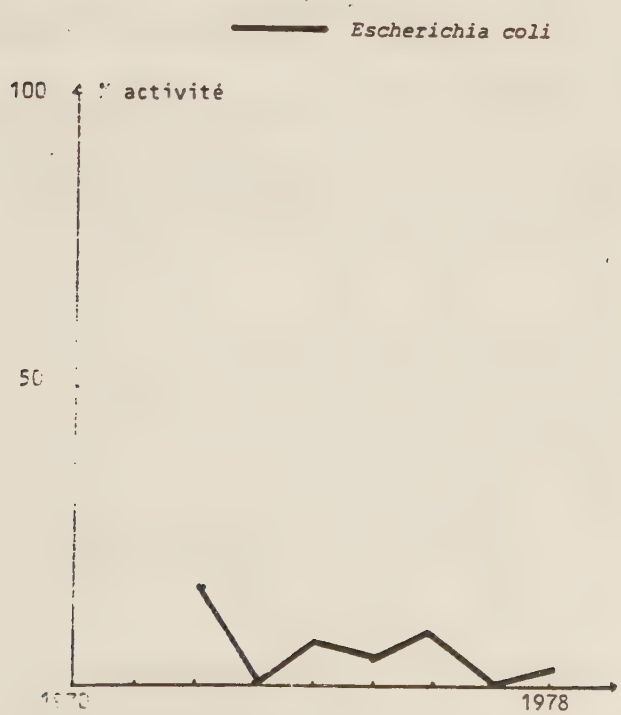
- novobiocine :

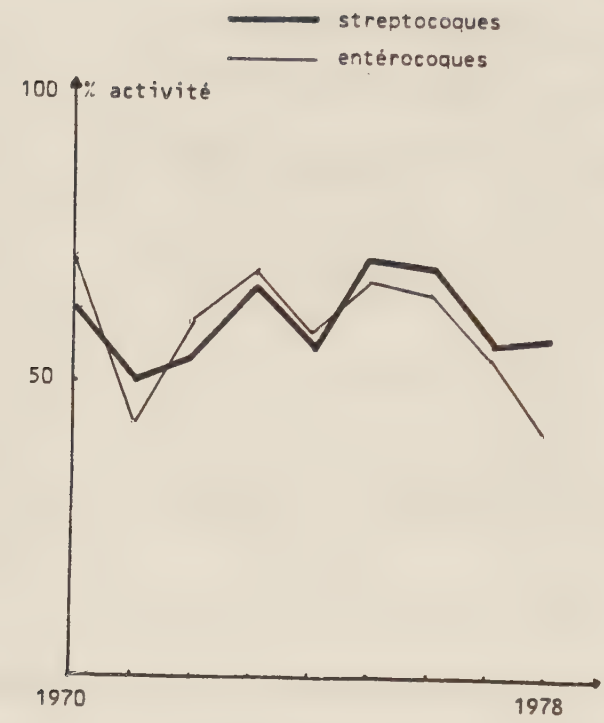
Son activité est très voisine de celle des rifamycines. Le pourcentage d'activité vis-à-vis des staphylocoques est en légère augmentation.

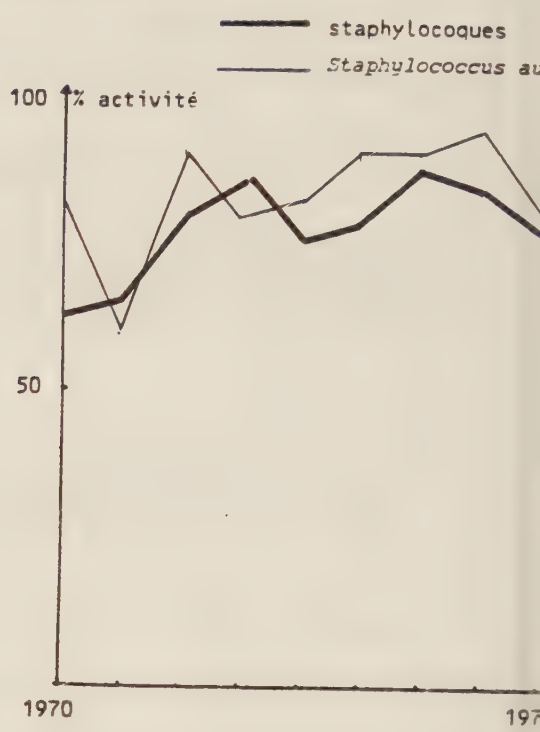
Son emploi en médecine vétérinaire dans le traitement des mammites est encore restreint.

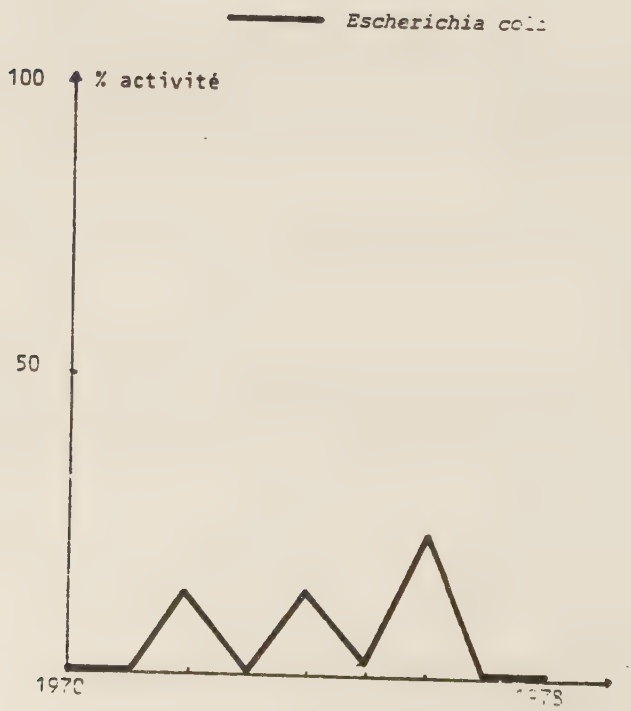

streptocoques
entérocoques
00
% activité
50
1970
1978


staphylocoques
Staphylococcus aureu
100
% activité
50
1970
1978


Escherichia coli
100
% activité
50
1978


streptocoques
entérocoques
100
% activité
50
1970
1978


staphylocoques
Staphylococcus au
100
% activité
50
1970


Escherichia coli
100
% activité
50
1970

G) Polypeptides

Polymyxine B (p.60)
Colistine (p.61)

Les polymyxines se fixent électivement sur les sites anioniques de la membrane cytoplasmique, cette fixation provoque une désorientation des lamelles lipoprotéiques et entraîne une désorganisation de la barrière osmotique. La bactérie se vide de son contenu et meurt rapidement.

Les polymyxines agissent également en dénaturant les acides nucléiques, en particulier l'ARN ribosomal.

1 - Résistance

Elle est exclusivement chromosomique. Généralement elle est très réduite et très tardive.(49)

2 - Evolution

C.M.I. µg/ml	polymyxine B	colistine
	10 - 40	10 - 30

Le pourcentage d'activité des polypeptides vis-à-vis des streptocoques et des staphylocoques est faible, leur spectre d'action ne recouvrant que peu de Gram positif.

Le fait marquant et très apparant sur les graphiques est l'augmentation du pourcentage d'activité de la polymyxine tandis que celui de la colistine diminue régulièrement et ceci vis-à-vis des trois germes étudiés. Cela étant peut-être dû au fait que la polymyxine B, premier polypeptide à être commercialisé en médecine vétérinaire, est actuellement supplanté par la colistine.

Notons cependant que leur efficacité est actuellement la même vis-à-vis de *Escherichia coli* (60 %).

H) Sulfamides - Triméthoprime

Sulfaméthizol (Rufol ND) (p. 63)
Sulfaméthoxypyridazine (Sultirène ND) (p. 64)
Triméthoprime - Sulfaméthoxazol (Bactrim ND) (p. 65)

1 - Résistance

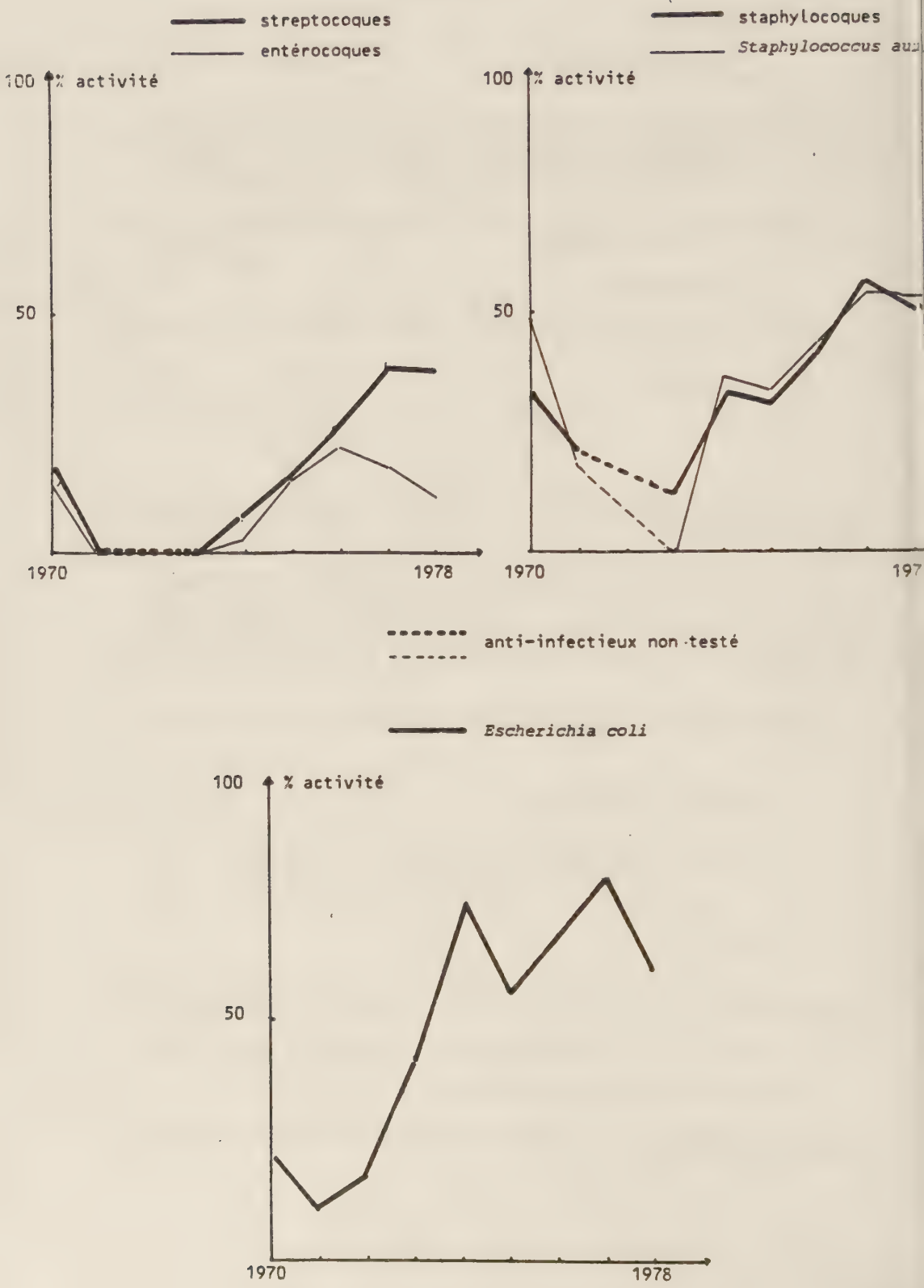
- Sulfamides :

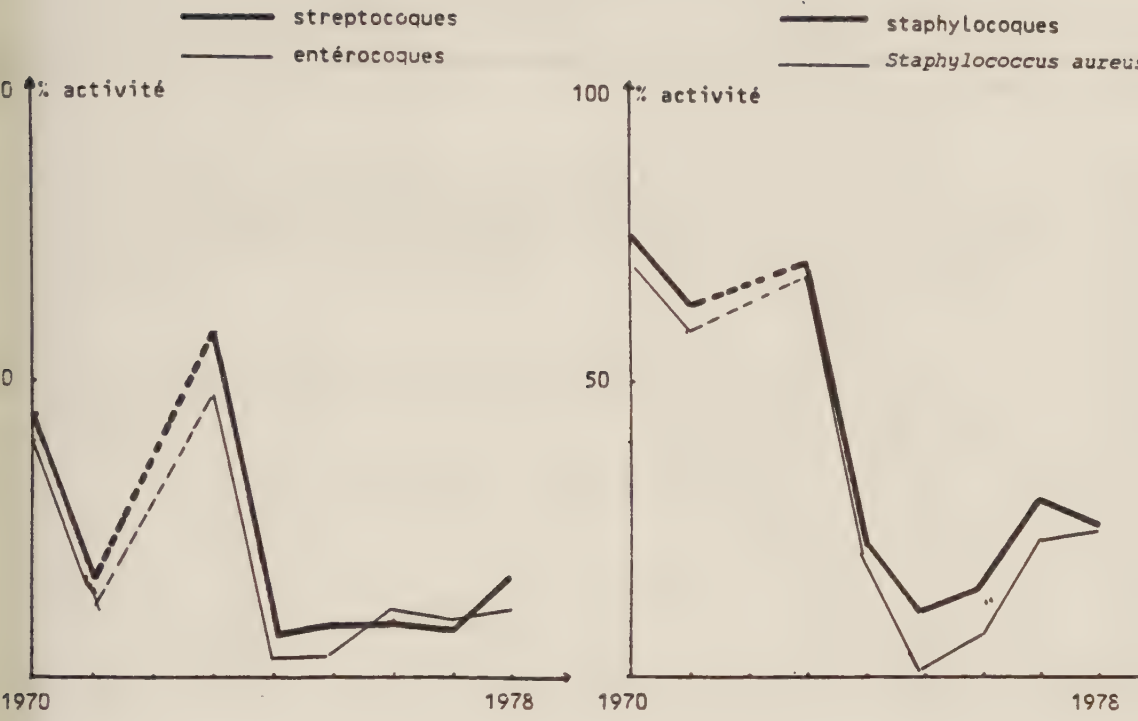
Par leur structure analogue à celle de l'acide para-aminobenzoïque (PAB), les sulfamides pourraient intervenir dans le métabolisme de ce dernier :

. au niveau de son incorporation dans la synthèse des acides foliques,

. comme régulateur de synthèse du PAB,

. et à une étape ultérieure, dans la reconnaissance de l'enzyme dihydroptéorate synthétase (DHPS).


streptocoques
entérocoques
100
% activité
50
1970
1978
staphylocoques
Staphylococcus au
100
% activité
50
1970
197
anti-infectieux non testé
Escherichia coli
100
% activité
50
1970
1978


streptocoques
entérocoques
staphylocoques
Staphylococcus aureus
100
% activité
50
1970
1978
anti-infectieux non testé
Escherichia coli

Plusieurs hypothèses peuvent expliquer la résistance aux sulfamides :

. diminution, sous contrôle chromosomique ou plasmidique, de la perméabilité à ces substances, (64)

. hyperproduction de PAB,

. synthèse par la bactérie d'un enzyme (DHPS) modifié, présentant une faible affinité pour les sulfamides. Il a été montré récemment qu'un plasmide peut coder pour un tel enzyme modifié. Les plasmides conférant la résistance aux sulfamides sont actuellement très répandus chez de nombreuses espèces bactériennes (30).

- Triméthoprime :

Le triméthoprime agit aussi sur la synthèse des acides foliques à une étape ultérieure à celle des sulfamides, en bloquant l'activité de l'enzyme dihydrofolate-réductase (DHFR).

Trois types de résistances à support chromosomique existent :

. mutants thymine,

. hyperproduction de l'enzyme DHFR,

. synthèse d'une DHFR modifiée présentant une faible affinité pour le triméthoprime (30).

Récemment, une résistance à support plasmidique, présentant le dernier type de résistance évoqué, a été mise en évidence.

2 - Evolution

- Streptocoques :

Bien que les sulfamides agissent normalement sur les coques à Gram positif, les streptocoques y sont assez peu sensibles. Le pourcentage d'activité des sulfamides étudiés ne cesse de diminuer et est actuellement très faible, conséquence d'une utilisation intensive ayant induit un fort pourcentage de résistance, le Bactrim ND n'échappant pas à cette évolution générale.

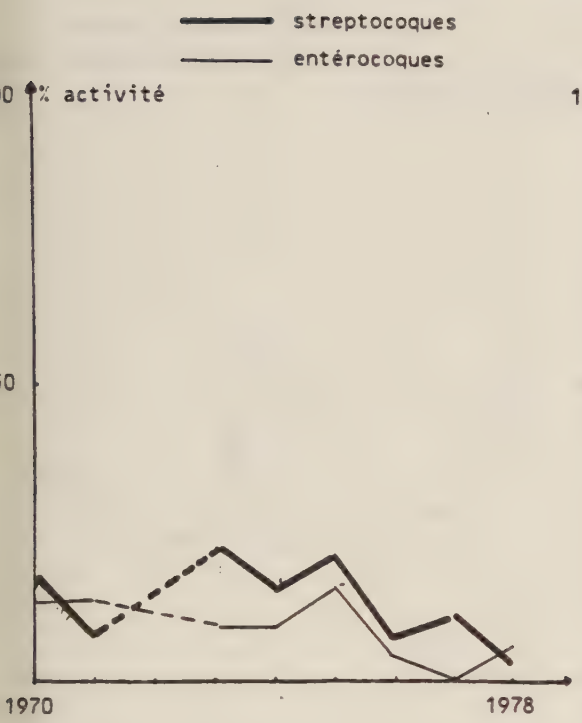
- Staphylocoques :

Le pourcentage d'activité des sulfamides a baissé de manière importante et n'est jamais supérieur à 50%. Ceci appelle aux mêmes remarques que pour les streptocoques concernant les résistantes induites.

- *Escherichia coli* :

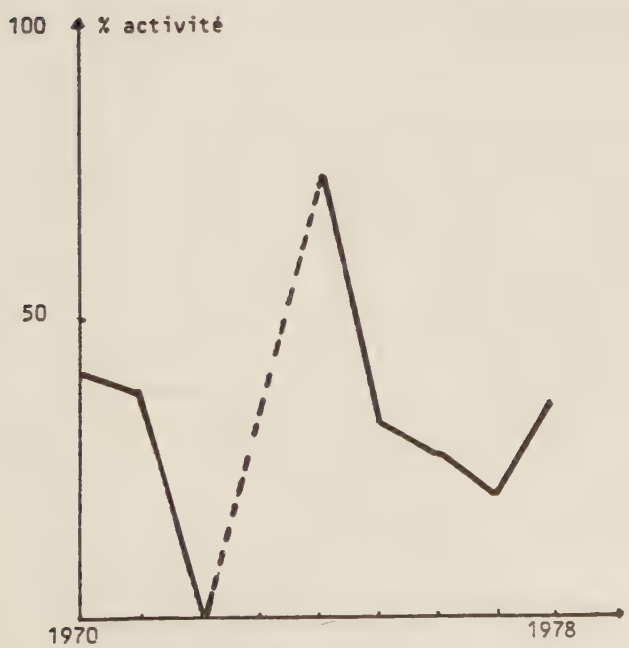
Les sulfamides normalement actifs contre le colibacille, présentent un pourcentage d'activité moyen (Bactrim ND) ou inférieur à la moyenne.

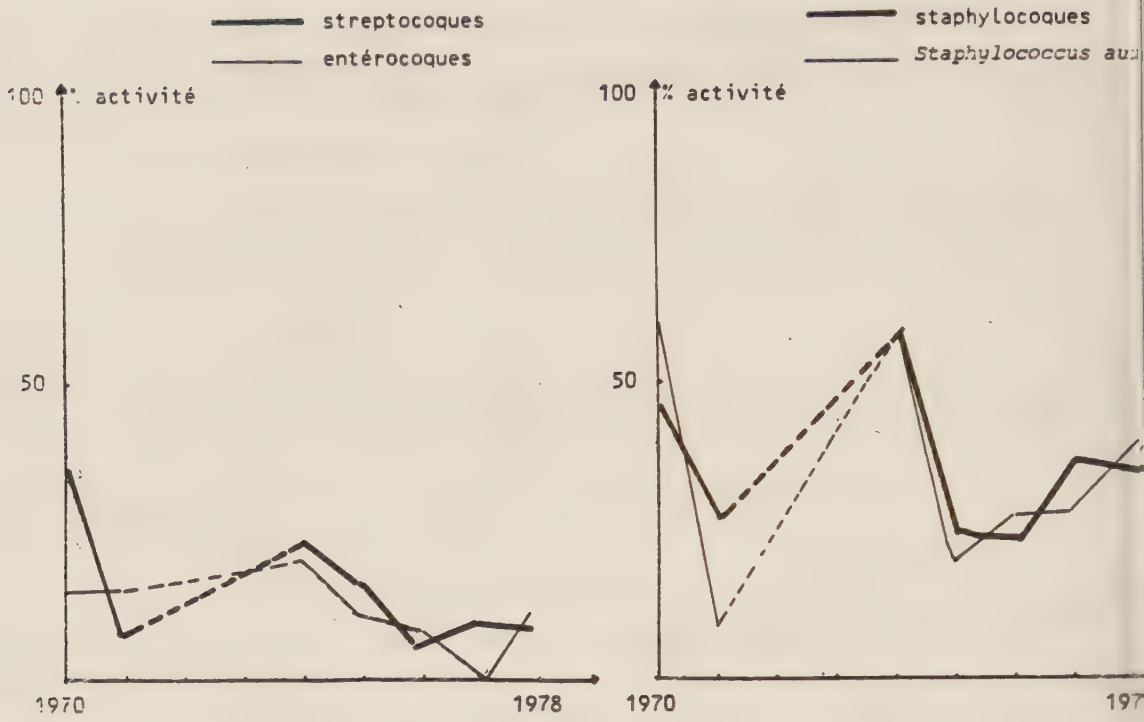
Les graphiques montrent une baisse importante et générale de l'efficacité de ces substances, surtout à partir de 1974. L'explication tient peut-être au regain de mode que ces substances connaissent en médecine vétérinaire et ce, depuis quelque temps.

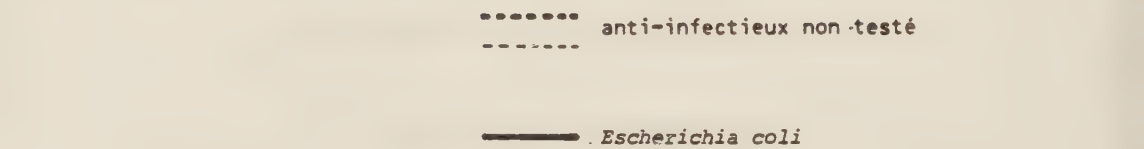


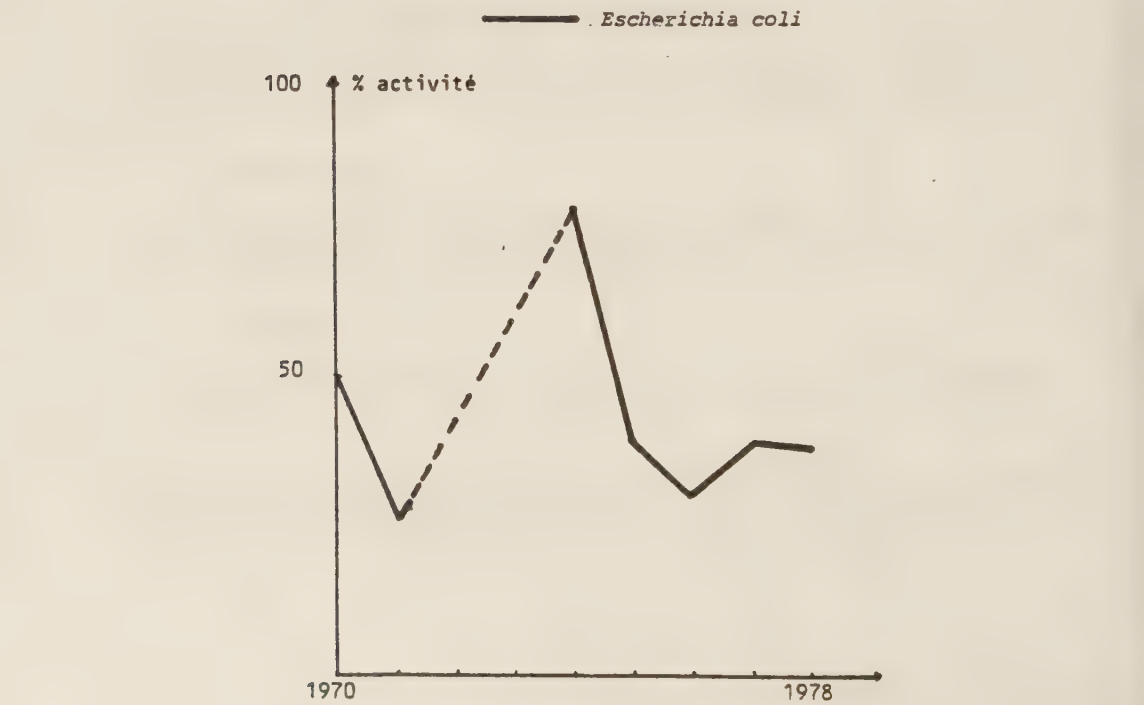
anti-infectieux non testé

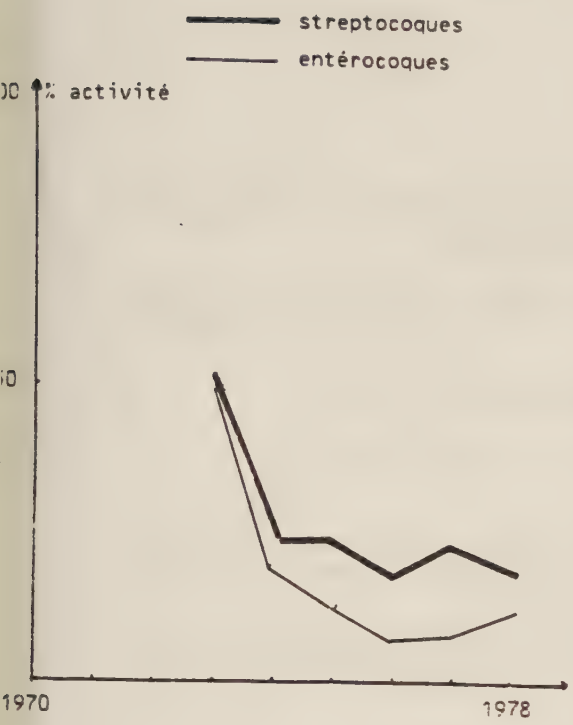
Escherichia coli

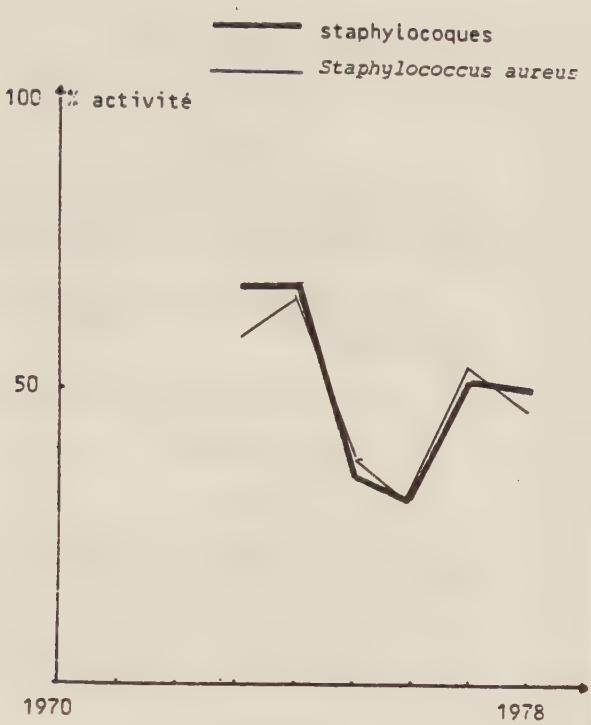


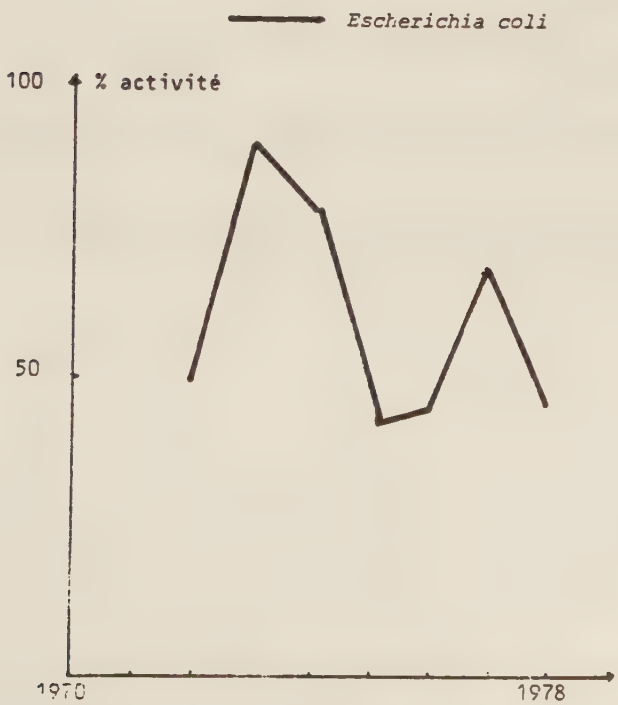

streptocoques
entérocoques
staphylocoques
Staphylococcus au
100
% activité
50
1970
1978
100
% activité
50
1970
197


anti-infectieux non-testé


Escherichia coli
100
% activité
50
1970
1978


streptocoques
entérocoques
00
% activité
50
1970
1978


staphylocoques
Staphylococcus aureus
100
% activité
50
1970
1978


Escherichia coli
100
% activité
50
1970
1978

I) Dérivés des Furanes

Nitrofurantoïne (p. 67)
Furazolidone (p. 68)

1 - Résistance

Le mécanisme d'action n'est pas encore complètement élucidé. Il semble que les furanes interviennent en bloquant le métabolisme des hydrates de carbone dans les cellules des êtres inférieurs.

Pour être actives ces substances doivent se transformer dans le germe (NO_2 ⟶ -NH-OH), cette transformation n'a pas lieu chez les organismes résistants.

La résistance est exclusivement chromosomique (49).

2 - Evolution

- Streptocoques :

Le pourcentage d'activité des furanes est satisfaisant et en hausse régulière. Le furazolidone, malgré des résultats incomplets, montre une efficacité croissante vis-à-vis des entérocoques.

Nous observons une discordance assez nette entre la hausse du pourcentage d'activité du nitrofurantoïne vis-à-vis des streptocoques et sa baisse vis-à-vis des entérocoques.

- Staphylocoques :

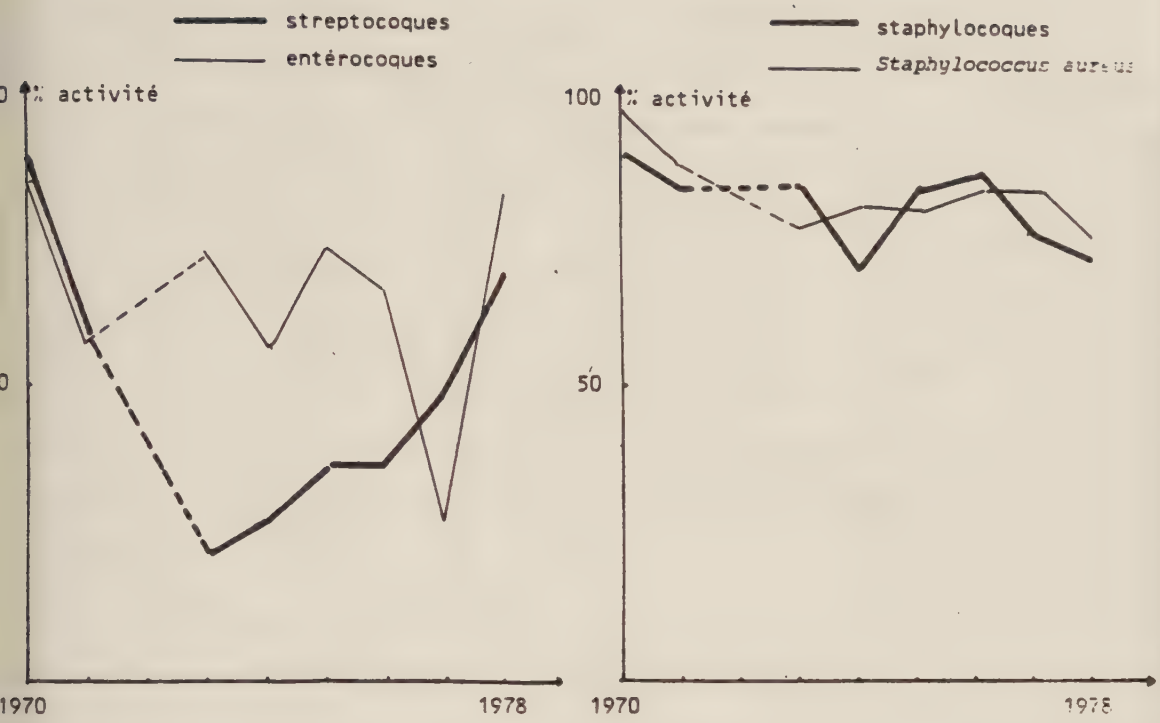
Les furanes ont une efficacité généralement bonne sur les staphylocoques, notamment le furazolidone dont le pourcentage d'activité augmente régulièrement.

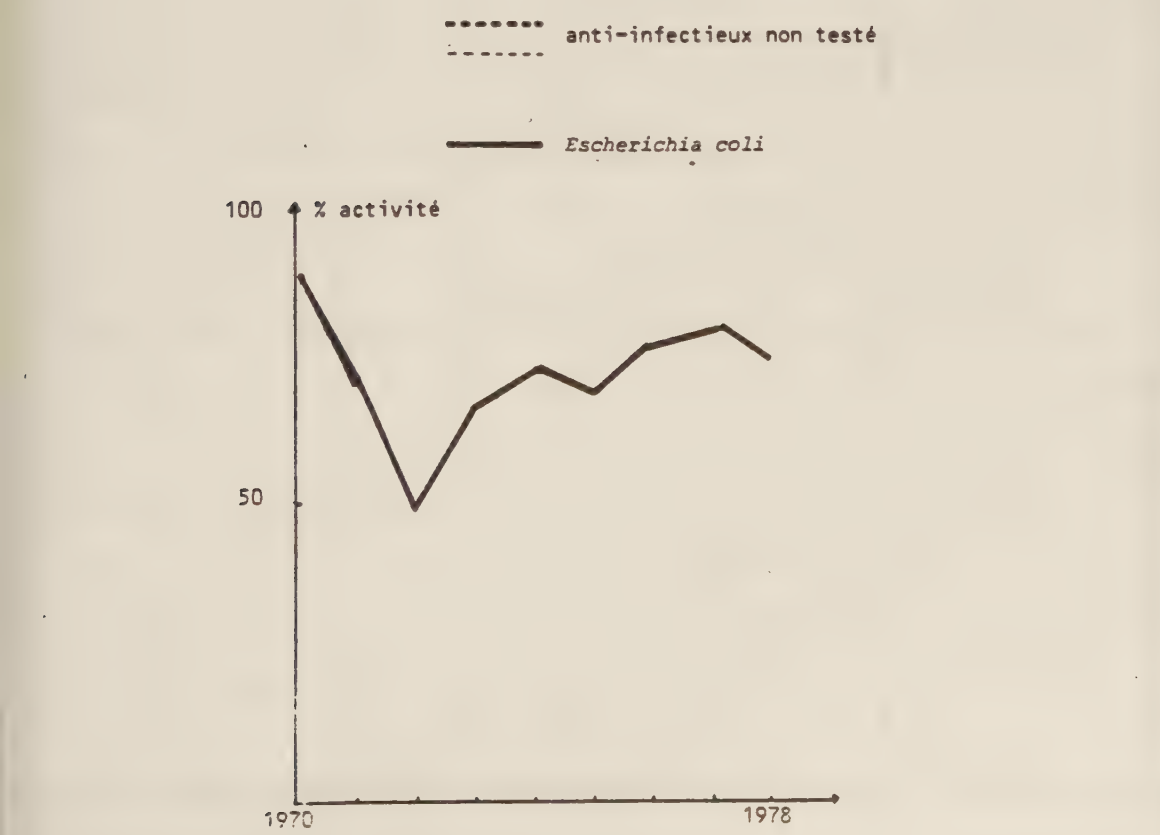
- *Escherichia coli* :

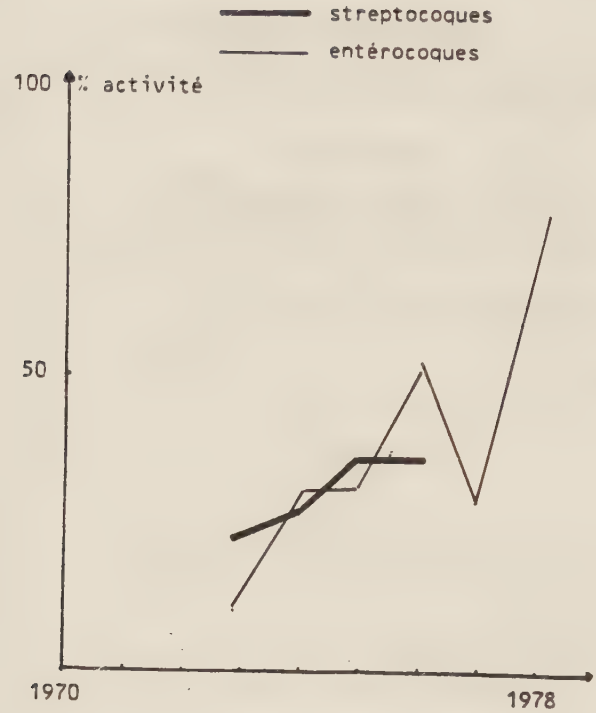
Les furanes ont une bonne activité sur le colibacille, le nitrofurantoïne en particulier.

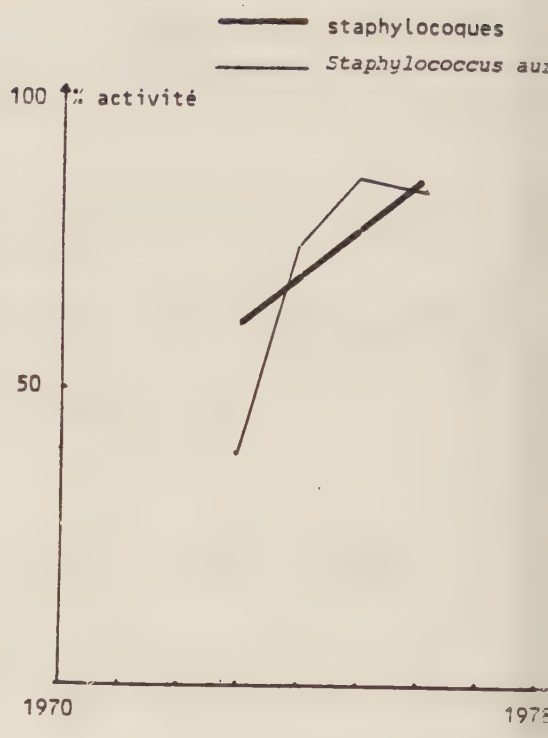
Il semble, bien que leur spectre d'action soit comparable avec celui des sulfamides, qu'ils aient développé moins de résistances que ces derniers.

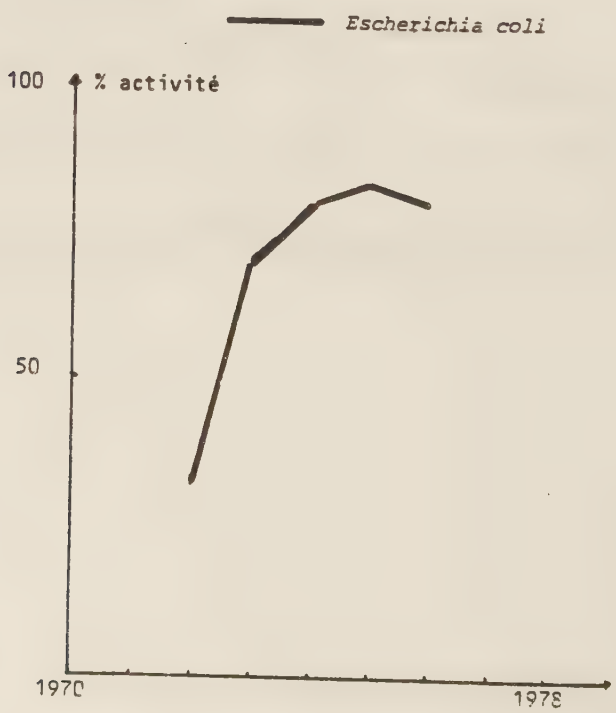
L'emploi de ces substances dans le traitement des mammites est limité, malgré leur bonne efficacité, en raison de leur pouvoir irritant pour le parenchyme mammaire.


streptocoques
entérocoques
% activité
0
1970
1978
staphylocoques
Staphylococcus aureus
100
% activité
50
1970
1978


anti-infectieux non testé
Escherichia coli
100
% activité
50
1970
1978


streptocoques
entérocoques
100
% activité
50
1970
1978


staphylocoques
Staphylococcus au
100
% activité
50
1970


Escherichia coli
100
% activité
50
1970
1978

Evolution des pourcentages d'activité des anti-infectieux sur les germes étudiés.

ANTI-INFECTIEUX		Pénicilline G	Cloxacilline	Ampicilline	Streptomycine	Kanamycine	Néomycine	Gentamycine	Tétracycline	Oxytétracycline	Chlortétracycline	Chloramphénicol	Erythromycine	Spiramycine	Virgymycine	Rifamycines	Novobiocine	Polymyxine B	Colistine	Rufol (ND)	Sultirène (ND)	Bactrim (ND)	Nitrofurantoïne	Furazolidone
Streptocoques	1970	72,7			27,3	54,5	54,5		63,6	66,7	72,7	81,8	72,7	63,6			63,6	18,2	45,5	18,2	36,4		90,9	
	1973	86	30,4	79,1	32,6	21	21	46,5	62,8	66,7	58,1	67,4	72,1	60,5	74,4	74,4	67,4	0	59,2	22,2	23,1 1974	51,9	22,2	22,2
	1978	78,8	30,8	80,8	15,4	31	30,8	51,9	51,9	48,1	34,8	63,5	61,5	75	67,3	63,5	57,7	38,5	17,3	3,9	9,6	19,2	71,2	35,2 1976
Staphylococcus aureus	1970	92,3			92,3	92,3	92,3		69,2	72,1	84,6	100	92,3	92,3			84,6	46,1	69,2	69,2	61,5		100	
	1973	66,7	47,8	66,7	66,7	66,7	66,7	80	73,3	73,3	60	60	73,3	80	86,7	80	80	0	70	30	60 1974	60	80	40
	1978	64	48	67	67	83,3	80,5	83	60	62	69	76	74	77,5	55	86	80	53,5	26	40	41	48	77,5	86 1976
Escherichia coli	1970	0	0		40	80	80		40	50	30	90	0	0			0	20	80	40	50		90	
	1973	0	0	57,1	50	70	70	90	60	50	40	40	10	10	0	0	0	40	90	40	80,6 1974	90	70	70
	1978	0	0	54,1	43,2	63,2 1976	51,4	59,5	43,2	37,8	21,7	67,6	2,7	29,8	2,7	2,7	0	59,5	54,1	35,1	37,8	45,9	75,7	81,8 1976

Le tableau page 69 résume l'évolution générale du pourcentage d'activité de chaque anti-infectieux testé, vis-à-vis des germes étudiés.

Nous constatons que cette évolution se fait, le plus souvent, dans le sens d'une augmentation de la résistance. Cette perte d'activité peut s'expliquer par l'usage trop intensif de certains anti-infectieux, la pression de sélection s'exerçant alors, entraîne l'isolement de souches résistantes (14).

Mais ce tableau nous permet de constater également que la résistance à d'autres anti-infectieux reste stationnaire ou diminue. Inversement, nous pouvons interpréter ces cas assez rares, soit par une diminution de la pression de sélection résultant d'un emploi peu fréquent de l'antibiotique concerné, soit par le recours à une association d'antibiotiques éliminant les souches résistantes, soit par une mutation réverse (très rare), soit encore par la contre sélection des bactéries mutantes en l'absence d'antibiotiques.

D'autre part, les résultats obtenus sont généralement le reflet assez fidèle des potentialités de chaque anti-infectieux, et entre autres les phénomènes de résistances microbiennes induites sont assez facilement mis en évidence, en particulier dans certains groupes qui sont largement employés en médecine vétérinaire (β-lactamines, tétracyclines, sulfamides, colistine).

Par ailleurs, si nous comparons les germes étudiés, c'est le colibacille qui se révèle le plus résistant vis-à-vis de la majorité des anti-infectieux. Ces résistances importantes d'*E. coli* à de nombreux antibiotiques ne sont pas sans danger pour la santé humaine. En effet de nombreux auteurs s'accordent pour souligner la propriété que possède *E. coli* de transmettre ses plasmides R à d'autres entérobactéries, avec une grande fréquence (41,45,50), et ceci, même pendant une période assez longue après l'arrêt du traitement (51).

Les graphiques montrent de plus, de grandes variations annuelles de la sensibilité du colibacille. Il semble possible d'attribuer ceci au fait que le terme de colibacille regroupe des bactéries de sérotypes distincts, pouvant présenter des différences dans l'acquisition de résistances aux antibiotiques.

Enfin, nous regrettons l'absence de commémoratifs détaillés qui auraient permis une analyse plus précise de l'évolution de la sensibilité des germes aux antibiotiques. Il serait souhaitable, en effet, d'effectuer des analyses régulières avant et après traitement (contrôle de l'efficacité), sur des cheptels bien isolés. De telles études sont menées depuis peu par l'I.T.E.B. sur le troupeau expérimental de DERVAL en Loire-Atlantique.

CONSEQUENCES

Deux problèmes essentiels se posent : le choix et l'emploi de l'antibiotique dans le traitement des mammites, et le problème des résidus d'antibiotiques dans le lait.

I - CHOIX ET EMPLOI DES ANTIBIOTIQUES

Le praticien face à une mammite déclarée doit tout d'abord effectuer un prélèvement de lait, mais le délai d'obtention d'un antibiogramme et la nécessité de frapper vite pour éviter l'apparition de bactéries mutantes, le contaignent souvent à la mise en oeuvre d'un traitement précoce. Dans l'ignorance du germe responsable, le traitement est le plus souvent effectué, soit avec un antibiotique à large spectre, soit avec une association d'antibiotiques (35).

Nous avons vu précédemment qu'un des intérêts des graphiques était de définir une activité moyenne de chaque anti-infectieux par rapport à chacun des germes responsables de mammites.Cette activité et son évolution également accessible grâce aux graphiques peuvent être utiles au praticien lors de son choix.

Nous retiendrons essentiellement du tableau page 69 la bonne activité, contre les germes Gram positif, de la pénicilline (très efficace sur les streptocoques) ainsi que celle des macrolides, des rifamycines et de la novobiocine. En ce qui concerne *Escherichia coli*, seuls l'ampicilline,la kanamycine, la gentamycine et la polymyxine B ont une activité suffisante.

Mention doit être faite du chloramphénicol dont l'activité *in vitro* est beaucoup plus satisfaisante que l'activité *in vivo*, et des furanes dont le pouvoir irritant limite l'utilisation (39).

Les graphiques peuvent également aider au choix entre plusieurs antibiotiques actifs (germe isolé, antibiogramme connu). En effet, l'évolution de l'activité peut constituer un des critères de choix. Un antibiotique dont l'activité tend à augmenter sera préférable à un antibiotique dont l'activité diminue ou reste stationnaire.

Un autre aspect important du choix de l'antibiotique est lié à son élimination dans le lait. Nous possédons actuellement un certain nombre de données sur l'élimination de quelques antibiotiques sous forme pure, après injection intramammaire. Mais l'élimination des antibiotiques contenus dans les pommades intramammaires varie beaucoup en fonction de la forme de l'antibiotique, de l'excipient, de la production de lait,et du degré d'inflammation du quartier. De plus, de nombreuses préparations du commerce associent plusieurs antibiotiques. Or, il est très difficile de suivre l'excrétion simultanée de deux antibiotiques (56,67).

Il faut noter que l'action de l'antibiotique est conditionnée par différents facteurs, selon que celui-ci est utilisé par voie intramusculaire ou par voie intramammaire (39).

Un antibiotique injecté par voie intramusculaire doit avoir :

- une faible concentration minimale inhibitrice,
- un bon pouvoir de diffusion à partir du point d'injection,
- un faible degré de liaison aux protéines du sérum,
- une demie vie longue dans l'organisme,
- et être suffisamment liposoluble.

Le chloramphénicol, la kanamycine ne passent pas, ou très peu, la barrière mammaire. Par contre les macrolides diffusent bien. La pénicilline nécessite des doses élevées: 10 millions UI par 24 heures (35).

Un antibiotique infusé par voie mammaire doit avoir :

- une faible concentration minimale inhibitrice,
- un très faible pouvoir irritant,
- un faible degré de liaison avec les protéines du tissu mammaire et le lait,
- être suffisamment liposoluble,
- et avoir une courte période d'élimination polluante.

Dans la majorité des cas il faut préférer une mono-antibiothérapie bien conduite après lecture d'un antibiogramme. Pour obtenir l'éradication d'une flore pathogène sensible, il faudra alors, avec cet antibiotique efficace (bactéricide ou bactériostatique) frapper fort d'emblée, maintenir les thérapeutiques pendant un minimum de 36 heures (20) et pendant un temps plus long si les signes de l'infection persistent.

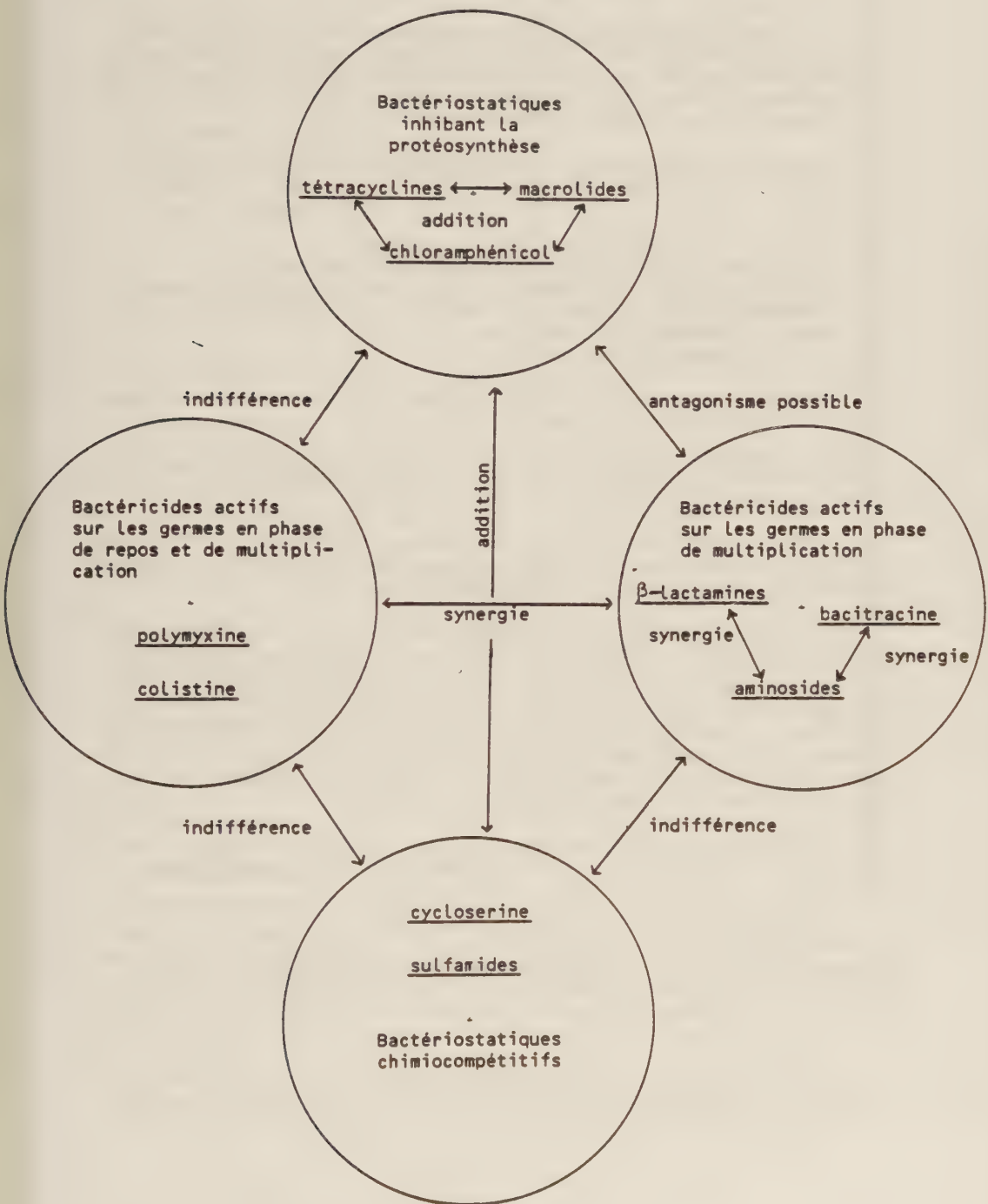
Si une association d'antibiotiques semble utile, il convient d'appliquer les lois de JAWETZ, qui bien qu'anciennes (1952), sont toujours valables, de façon à obtenir une synergie ou au moins une addition de chacun des effets des antibiotiques pris isolément. L'association ne comportera que deux antibiotiques au maximum (40).

Il semble également intéressant d'essayer de réaliser une rotation des antibiotiques dans une exploitation ou une clientèle, afin de diminuer la pression de sélection de chaque antibiotique et donc le nombre de souches résistantes.

L'utilité de l'adjonction d'un anti-inflammatoire corticoïde est discutée. La présence de cet anti-inflammatoire ne serait bénéfique que dans les mammites bactériologiquement guéries. Cependant sur le terrain, il apparaît que les corticoïdes améliorent la clinique, en particulier dans les mammites à coliformes, ces germes ayant un fort pouvoir irritant pour le parenchyme mammaire (39). De même l'action irritante de certains antibiotiques, notamment les tétracyclines (62), peut être compensée par la présence de corticoïdes dans les préparations destinées à un usage intramammaire.

ASSOCIATIONS D'ANTIBIOTIQUES

(d'après F. LESCURE) (40)



II - LES RESIDUS D'ANTIBIOTIQUES

Ces résidus sont surtout la conséquence des thérapeutiques antibiotiques administrées par voie générale ou par voie locale. La supplémentation par antibiotiques dans l'alimentation est en effet suffisamment faible pour ne pas laisser de résidus, alors qu'elle joue un rôle important, dans l'apparition de souches résistantes (45).

Ils posent le problème de la rémanence des antibiotiques. La durée d'élimination de l'antibiotique dans le lait est fonction de nombreux facteurs :

- de l'antibiotique lui-même, de l'excipient,
- de la dose administrée, de la voie d'administration,
- de l'état général de l'animal, du stade et du niveau de lactation,
- du degré d'inflammation de la mamelle,
- de la fréquence d'administration,
- de la fréquence de la traite ...

Les délais de rémanence des antibiotiques dans le lait sont en moyenne de trois à dix jours (cf. tableau p. 75).

Les préparations contenant un excipient retard sont plus efficaces que celles à élimination rapide, mais elles présentent l'inconvénient d'un délai de rémanence plus long (20).

Il nous faut définir exactement les risques que représentent les résidus d'antibiotiques dans les laits livrés par les producteurs. Ces risques apparaissent très divers selon l'optique envisagée.

Du point de vue des laiteries transformatrices, les laits avec antibiotiques présentent l'inconvénient de ne pouvoir subir des fermentations normales, les germes utiles habituellement employés étant inhibés de la même manière que les germes nocifs visés par l'action thérapeutique. Il en résulte, soit des impossibilités de fabrication, soit des déviations des opérations de transformation qui aboutissent à des produits anormaux, non conformes aux standards habituels, et de ce fait, déplaisants pour le consommateur et difficiles, sinon impossibles, à commercialiser. Le risque est dans ce cas essentiellement économique (36,37).

Du point de vue du consommateur, il faut faire une distinction d'importance dans l'estimation des risques consécutifs à l'utilisation des antibiotiques.

Il existe un risque incontestable et lourd de conséquences parfois, de transmission d'animal à animal et d'animal à homme (1), de souches bactériennes résistantes. L'animal qui reçoit l'antibiotique voit certaines souches résistantes devenir dominantes dans son organisme (29). Cet animal joue le rôle de réservoir de germes, de source de contage et l'animal neuf (ou l'homme) recevra à son contact des bactéries déjà résistantes (41,45,55).

Par contre, le risque de sélection de germes résistants chez l'homme qui absorbe des denrées alimentaires d'origine animale contenant des résidus d'antibiotiques est minime sinon absent (65).

ANTIBIOTIQUES	MODE D'ADMINISTRATION		
		Intramammaire	
	Injectable	Eau	Huile
Benzylpénicilline (sel de sodium)	3 à 5 j.	3 à 4 j.	6 à 8 j.
(sel de potassium)	4 à 6 j.		
Pénicilline procaïne	4 à 6 j.	3 à 6 j.	6 à 10 j.
Bénéthamine pénicill.		7 à 10 j.	
Cloxacilline		7 à 10 j.	
Streptomycine	3 à 5 j.	4 à 6 j.	
Néomycine		4 à 8 j.	
Spiramycine	3 à 8 j.	7 j.	
Tylosine	7 à 9 j.		
Polymyxine B		4 à 5 j.	
Bacitracine		4 à 5 j.	
Chlortétracycline	3 à 4 j.	8 à 12 j.	
Oxytétracycline	4 à 8 j.	4 à 8 j.	
Tétracycline		3 à 4 j.	
Chloramphénicol	ne passe pas dans le lait	20 j.	

- Délais de rémanence des antibiotiques dans le lait, d'après G. LORGUE -

Dans le cas particulier de la pénicilline il existe un risque réel : celui de l'allergie induite. Soit par actes médicaux de thérapeutique, soit par l'ingestion de résidus de pénicilline à doses même faibles, le renouvellement occasionnel de ces prises fortuites étant susceptible de déclencher des crises dont la gravité croît avec la répétition (31,37).

D'autre part, le corps médical souligne depuis longtemps les graves inconvénients dûs à la présence de résidus de chloramphénicol dans les denrées d'origine animale, cet antibiotique devrait être réservé à la thérapeutique humaine, et encore conviendrait-il de ne faire appel à lui qu'après mûre réflexion (7).

Les moyens mis en oeuvre à ce jour sur le plan règlementaire visent à assurer une continuité de l'action, depuis le producteur jusqu'au consommateur.

Au stade de la production, la seule pollution est celle qui découle de la thérapeutique. Il convient donc de limiter l'emploi des antibiotiques, de bien définir leurs conditions d'utilisation et, en premier lieu, de contrôler la vente de ces produits.

Au stade de la consommation, à la demande du Conseil Supérieur d'Hygiène Publique de France, et de l'Académie de Médecine, la Direction des Services Vétérinaires a prescrit, dès le 6 Août 1971, une coloration réglementaire des pommades à base de pénicilline destinées à être utilisées par voie intramammaire. Le tri des laits contenant des résidus d'antibiotiques et accidentellement livrés à la consommation, suivi de leur retrait, s'en trouve facilité (31,34).

De plus la loi sur la répression des fraudes du 1er Août 1905 considère comme une falsification l'addition au lait de toute substance étrangère. Cette loi constitue l'élément premier de la règlementation. Les Pouvoirs Publics ont élaborés d'autres textes, dont les principaux sont le décret du 5 Juin 1971 pris en application de la loi du 3 Janvier 1969 relative à la qualité du lait (précisant que le lait contenant des résidus d'antibiotiques ne pourrait pas être présenté à la collecte) et le décret du 10 Juin 1977 pris en application de la loi du 29 Mai 1975 relative à la pharmacie vétérinaire (précisant entre autre l'obligation d'ordonnance avec mention du temps d'attente pour la délivrance et l'administration d'un certain nombre de médicaments dont les antibiotiques).

Depuis l'expiration du délai fixé par l'interprofession laitière au 23 Décembre 1979 pour la collecte à part du lait susceptible de contenir des résidus d'antibiotiques, la recherche de ces résidus est mise en place et la Direction de la Qualité exige (arrêté du 21 Décembre 1979) l'indication du temps d'attente pour les médicaments susceptibles de laisser des résidus bactériostatiques, antibiotiques ou antifongiques dans le lait des femelles laitières.

En plus de ces précautions, une application stricte de la règlementation prévue par le décret du 4 Janvier 1971 pris en application de la loi du 3 Janvier 1969 (loi Godefroy) sur le paiement du lait selon sa qualité et sa composition se met en place. Les services intéressés du Ministère de l'Agriculture y contribuent avec la participation des diverses professions de producteurs et de transformateurs de lait regroupés au sein du Centre National Interprofessionnel de l'Economie Laitière. Cette procédure, pénalisant les producteurs peu scrupuleux sur la totalité de leur fourniture mensuelle de lait, est très incitative (43).

CONCLUSION

Cette étude nous montre combien il est important pour le praticien de réaliser un prélèvement avant tout traitement. L'analyse de ce prélèvement permet de connaître le ou les germes en cause et leur sensibilité à différents agents anti-infectieux. Le recours plus fréquent au laboratoire devrait donc permettre une meilleure utilisation des antibiotiques, et par conséquent de meilleurs résultats pour le producteur (tant sur le plan sanitaire que sur le plan économique) et une plus grande protection du consommateur.

L'antibiothérapié constitue la base du traitement des mammites des vaches laitières. Mais, pour chaque troupeau, elle doit s'intégrer dans un plan d'ensemble de lutte contre ces affections, et c'est celui-ci qui constitue l'action vraiment utile. La prophylaxie doit répondre à un certain nombre de conditions pour que son application soit à la fois raisonnée et facile (24,38).

Sur le plan de la conception, elle agit sur les deux paramètres qui caractérisent l'état des infections mammaires : le taux d'infection (nombre des infections existant à un moment donné), et le taux d'implantation (nombre des infections s'implantant dans une mamelle pendant un temps donné).

Sur le plan de la réalisation, elle est caractérisée par sa simplicité, son efficacité, son innocuité, son économie et son adaptabilité. Il faut que cette prophylaxie soit libre, volontaire, contractuelle. Le schéma adopté en France repose essentiellement sur un tryptique dont les trois volets sont :

- contrôle, vérification et éventuellement remise en état de la machine à traire,
- trempage des trayons, dans un cadre plus général d'une bonne hygiène de la traite,
- traitement hors lactation.

Ce schéma est un plan minimal de lutte contre les mammites, pour réaliser une action plus complète il convient de dépister systématiquement les mammites subcliniques pendant la lactation, d'éliminer les vaches incurables qui restent disséminatrices de germes, et enfin de contrôler étroitement les différents paramètres de l'environnement : habitat (hygrométrie, éclairement, température), alimentation (le facteur nutritionnel intervenant comme révélateur d'une infection occulte).

A ces conditions, il semble bien qu'actuellement, en France, soient réunis les moyens qui permettront, sinon une éradication totale des mammites, tout au moins une diminution importante du nombre des infections mammaires.

Vu : Le Directeur de l'Ecole Vétérinaire

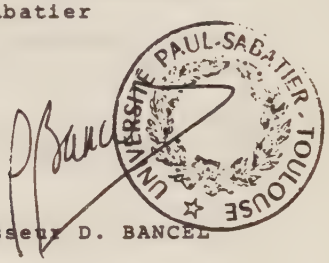
rapporteur

Professeur R. LAUTIE

Toulouse, le 18.03.82

Vu : Le Président de la Thèse

VU ET PERMIS D'IMPRIMER
Le Président de l'Université
Paul Sabatier



Professeur : Mme ENJALBERT

Professeur D. BANCEL

BIBLIOGRAPHIE

1 ANDERSON (E.S.) - Facteurs de transfert et résistance aux antibiotiques chez les entérobactéries - *Ann. Inst. Pasteur*, 1967, 112, 547 - 563.

2 ASSELINEAU (J.), ZALTA (J.P.) - Les Antibiotiques : structure et exemple de mode d'action - Paris : Hermann, 1973, 364 p.

3 BAUER (A.N.), KIRBY (W.M.M.), SHERRIS (J.C.), TURK (M.) - Antibiotic susceptibility testing by a standardized single disc method - *Am. of Clin. Pathol.*, 1966, 45, (4), 493 - 496.

4 BEVENISTE (R.), DAVIES (J.) - Mechanisms of antibiotic resistance in bacteria - *Ann. Rev. Biochem.*, 1973, 42, 471 - 506.

5 BERGOGNE-BEREZIN (E.) - Tendances actuelles de l'antibiothérapie - *Nouv. Presse Méd.*, 1980, 9, 2909 - 2914.

6 BIND (J.L.), LEPLATRE (J.), POUTREL (B.) - Les Mammites : l'échantillon et son exploitation, mise au point technique, rôle du praticien et du laboratoire - *Bull. G.T.V.*, 1980, 6, (B), 206.

7 BINET (M.V.) - Les résidus du chloramphénicol dans les denrées d'origine animale - Thèse : Méd. vét., Alfort, 1976.

8 BODIN (G.), MILON (A.) - Travaux Pratiques de Bactériologie - E.N.V.T.,1977, 42 - 90.

9 BOUANCHAUD (D.H.) - Aspect de l'hérédité non chromosomique chez les bactéries; Structures, réplication et classification des plasmides de résistance aux antibiotiques - *Bull. Inst. Pasteur*, Paris, 1973, 71, 49 - 73.

10 BOUANCHAUD (D.H.) - Comment une bactérie devient-elle résistante aux antibiotiques ? - *Vie méd.*, 1975, 23, 2071 - 2081.

11 BOUVET (A.), LE PENNEC (M.) - Les bêta-lactamines : mécanisme d'action et de résistance - *Rev. du Praticien*, 1977, 27, 43.

12 CHABBERT (Y.A.) - Données actuelles sur la résistance des bactéries aux antibiotiques - *Actual. Pharmacol.*, 1973, 26, 27 - 60.

13 CHABBERT (Y.A.), BAUDENS (J.G.), BOUANCHAUD (D.H.) - Résistance extrachromosomique chez les entérobactéries et les staphylocoques - *Path. Biol.*, 1967, 15, 23 - 24, 1173 - 1178.

14 CHRISTOL (D.), BURE (A.M.) - Etat actuel de la résistance bactérienne *in vitro* aux antibiotiques - *Path. inf. parasit. - R.P.*, 1975, 25; 29, 2289 - 2306.

15 COHEN (S.N.) - Transferable genetic elements and plasmid evolution - *Nature*, 1976, 263, 731 - 738.

16 DARDILLAT (J.) - Police sanitaire des vêlages. Incidence de la qualité du colostrum sur le niveau des pertes néonatales - Journées d'Informations Vétérinaires de l' I.T.E.B. - Janvier 1975, 27 - 35.

17 DAVIES (J.) - La résistance des bactéries aux agents anti-microbiens - *Triangle*, 1972, 11, 4, 131 - 136.

18 DAVIES (J.), COURVALIN (P.) - Mechanisms of resistance to aminoglycosides - *Amer. J. Med.*, 1977, 62, 868 - 872.

19 DE BUYSER (M.L.), OLLIEUZ (N.) - Contribution à l'étude de l'antibiorésistance des souches de *Staphylococcus aureus* isolées en France des produits alimentaires d'origine animale - *Rec. Méd. vét.*, 1979, 155, (7-8), 639 - 643.

20 DESMOULINS (M.), ROYER (P.), TOURATIER (L.), VIDEAU (D.) - Considérations générales sur l'élimination des antibiotiques dans le lait : de la chlortétracycline, la spiramycine et de la kanamycine - *Cah. Méd. vét.*, 1977, 46, 42 - 48.

21 DUVAL (J.), SOUSSY (C.J.) - Antibiothérapie - 2e éd. Paris : Masson, 1980, 176 p.

22 EDDY (R.G.) - Coliform and *Pseudomonas* mastitis : Epidemiology and control - *Vet. Rec.*, 1977, 100, 441 - 442.

23 ERICSSON (H.M.), SHERRIS (J.C.) - Antibiotic sensitivity testing : Report of an international collaborative study - *Acta. Pathol.* et *Microbiol. Scand.*, 1971, section B, supplément n°217.

24 FARGES (J.) - Assainissement des troupeaux laitiers du point de vue des infections de la mamelle - Enseignement post-universitaire, E.N.V.A., 28 - 29 Avril 1972.

25 FERNEY (J.), OUDAR (J;), de SAINT-AUBERT (G.) - Diagnostic bactériologique des mammites - *Rev. Méd. vét.*, 1966, 117, 845.

26 FLANDROIS (J.P.) - L'Antibiogramme - *Cah. Méd. Lyonnais*, 1975, 51, 3 - 4.

27 FLANDROIS (J.P.), FLEURETTE (J.) - Caractères bactériologiques de *Streptococcus agalactiae* . Fréquence et conditions d'apparition de la pigmentation. Sensibilité aux antibiotiques - *Ann. Biol. Clin.*, 1975, 33, 369 - 377.

28 GAVAN (T.L.) - *In vitro* antimicrobial susceptibility testing : clinical implications and limitations. Symposium of Infection Diseases - *Med. Clin. of Am.*, 1974, 58, (3), 493 - 503.

29 GEDEK (B.) - Emploi d'antibiotiques à doses nutritives, prophylactiques et thérapeutiques, et développement de résistances chez les bactéries intestinales - *Rev. Méd. vét.*, 1979, 130, 2, 265 - 283.

30 GOLDSTEIN (F.W.) - Mécanismes de résistance aux sulfamides et au triméthoprime - *Bull. Inst. Pasteur*, 1977, 75, 109 - 139.

31 GOUNELLE (H.) - Sur l'usage des antibiotiques - *Cah. Méd. vét.*, 1977, 46, 5-7.

32 GUILLOT (J.F.), CHASLUS (E.) - Résistance des bactéries aux agents antimicrobiens - *Point vét.*, 1976, 3, 15, 21 - 29.

33 HUMBER (G.), LEROY (J.), AMAR (R.) - Mode d'action des antibiotiques - *Vie méd.*, 1973, 19, (3), 2379 - 2390.

34 I.T.E.B. - Les résidus d'antibiotiques dans le lait - *Praticien vét.*, 1979, 104, 7 - 8.

35 JACQUET (J.) - L'antibiothérapie des mammites bovines, *in* L'Antibiothérapie chez l'animal, données récentes - Galena, 1973.

36 JACQUET (J.), PITRE (J.) - Fréquence actuelle et conséquences de la présence des antibiotiques dans le lait et les produits laitiers - *Cah. Méd. vét.*, 1977, 46 , 58 - 64.

37 KAPLAN (M.M.), ABDUSSALAM (M.), BIJLENGA (G.) - Hygiène du lait : agents sensibilisateurs spécifiques et non spécifiques - *Cah. Méd. vét.*, 1977, 46 , 63 - 65.

38 LEPLATRE (J.) - La prophylaxie des mammites vue sous l'angle pratique - *Cah. Méd. vét.*, 1977, 46, 34 - 41.

39 LEPLATRE (J.) - Les Mammites - *Pfizer actual.*, 1979, 84, 5 - 28.

40 LESCURE (F.) - Les associations d'antibiotiques, *in* L'Antibiothérapie chez l'animal, données récentes - Galena, 1973.

41 LINTON (A.M.) - Antibiotic resistance : the present situation reviewed - *Vet. Rec.*, 1977, 100, 354 - 360.

42 LORGUE (G.) - Note de toxicologie vétérinaire - *G.N.I.T.V.*, vol. 2, n°4, Mars 1978.

43 MATHIEU (E.) - Le traitement des mammites et le consommateur - *Cah. Méd. vét.*, 1977, 46, 67 - 69.

44 MERCK - Manuel de microbiologie - Darmstadt (Allemagne) : Merck édit., 1968, 445 p.

45 MICHEL-BRIAND (Y.) - Résistance extrachromosomique aux antibiotiques de la flore bactérienne intestinale : II - Rôle de la résistance acquise par les bactéries intestinales résidentes - *Nouv. Presse Méd.*, 1977, 6, 3851 - 3855.

46 NEUMAN (M.) - *Vade-Mecum* des antibiotiques et agents chimiothérapiques anti-infectieux - 4e éd. Paris : Maloine, 1979, 679 p.

47 NEUMAN (M.) - La résistance bactérienne aux antibiotiques - *Vie Méd.*, 1970, 12, 4, 1837 - 1852.

48 NEUMAN (M.) - Evolution récente et perspectives de l'antibiothérapie - *Rev. Sciences Méd.*, 1978, 230, 9.

49 NEUMAN (M.) - Situation actuelle des résistances bactériennes selon l'antibiotique - *Gaz. Méd. de France*, 1979, 39, 4694 - 4699.

50 O.M.S. - Réunion sur la surveillance en vue de la prévention des risques pour la santé associés aux entérobactéries antibiorésistantes - Genève, 18 - 24 Octobre 1977.

51 PETROCHEILOU (V.), GRINSTED (J.), RICHMOND (M.H.) - R plasmid transfer *in vivo* in the absence of antibiotic selection pressure - *Antimicob. Agents Chemoter.*, 1976, 10, 753 - 761.

52 PITRE (J.) - L'Antibiogramme en médecine vétérinaire, *in* L'Antibiothérapie chez l'animal, données récentes - Galena, 1973.

53 PLATONOV (I.), BLOBEL (H.) - Therapeutic failures in chronic staphylococcic mastitis - *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, 1963, 142 , 1097 - 1101.

54 PLOMMET (M.) - Pathologie de la production du lait, 1 vol. : Diagnostic bactériologique des infections de la mamelle - *Cahiers Techniques du C.N.R.S.*, 1962.

55 POHL (P.), THOMAS (J.) - Utilisation des antibiotiques en production animale et risque d'apparition de souches résistantes chez l'homme - *Ann. Méd. Vét.*, 1977, 121 , 249 - 255.

56 ROGUINSKY (M.) - Etiologie et traitement des mammites - *Cah. Méd. vét.*, 1977, 46 , 8 - 13.

57 ROGUINSKY (M.), GESTIN (J.) - Influence sur les mammites, de l'alimentation hyperazotée avec tourteaux ou luzerne - *Arm. Rech. Vét.*, 1972, 3 , 4 , 633 - 650.

58 SAURAT (P.), GANIERE (J.P.) - Techniques de prélèvement en médecine vétérinaire : sérologie, bactériologie, virologie - E.N.V.T., 1977, 20 - 36.

59 SHAW (W.J.) - Biochemical mechanisms of transferable drug resistance - *Adv. Pharm. Chemother.*, 1971, 9 , 131 - 172.

60 SKYES (A.B.), MATTHEW (M.) - The β-lactamases of Gram negative bacteria and their role in resistance to β-lactam antibiotics - *Antimicrob. Chemother.*, 1976, 2 , 115 - 157.

61 THABAUT (A.), DUROSOIR (J.L.) - Méthodes d'automatisation de l'antibiogramme - Laboratoire de Bactériologie de l'Hôpital militaire Bégin - 7 et 8 Juin 1977.

62 THOMPSON (W.H.), LEAVER (D.D.) - Udder lesions in cows associated with intramammary infusion of chlortetracycline preparations during the dry period - *Austral. Vet. J.*, 1972, 48 , 588 - 592.

63 VIDEAU (J.) - Antibiotiques, résistances multiples et résistances croisées - *Cah. Méd. vét.*, 1976, 45 , 31 48.

64 VIDON (D.J.M.) - Les mécanismes d'acquisition des résistances aux antibiotiques - *Lyon Pharm.*, 1979, 30 ,(1), 43 - 49.

65 WALTON (J.R.) - Indirect consequences of low-level use of antimicrobial agents in animal feeds - *Federation Proc.*, 1975, 34 , 205 - 208.

66 WITCHITZ (J.) - Résistances enzymatiques aux aminosides et aminosides semi-synthétiques - Revue de la littérature - *Méd. Malad. infect.*, 1975, 5 , 6 bis, 319 - 350.

67 ZIV (G.) - Pharmakokinetic concepts for systemic and intramammary antibiotic treatment in lactating and dry cows - *Ann. Bull. IDF*, 1975, 85 , 314 - 330.